

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ulla Kratochvil, geb. Höllischer,
Fachärztin für Innere Medizin,
aus München

1970

Aus dem Anatomischen Institut (Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. med. H.-J. MERKER) des Fachbereichs Medizinische Grundlagenforschung der Freien Universität Berlin

Versuche zur Verhinderung und Restitution von durch atherogene Diät induzierten Leberveränderungen bei Wistarratten durch eine im Futter applizierte Kombination aus Clofibrat und einem natürlichen sulfatierten Glykosaminoglykan

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ulla Kratochvil, geb. Höllischer,
Fachärztin für Innere Medizin,
aus München

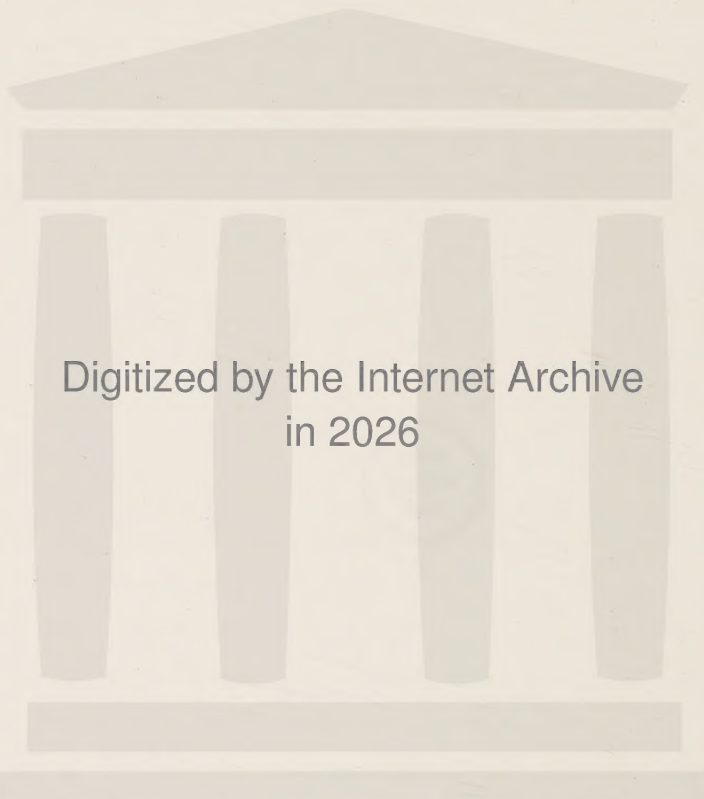


Referent: Prof. Dr. med. M. Pospisil

Korreferent: Prof. Dr. med. W. Schwartzkopff

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Tag der Promotion : 25.8.1978.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

GLIEDERUNG

=====

1. Wirkungen und Nebenwirkungen von Blutlipidreducern und chemisch verwandten Stoffen auf die Leber
 - 1.1 Wirkungen von Clofibrat und verwandter Substanzen auf die Leber
 - 1.2 Unerwünschte Nebenwirkungen von Clofibrat und verwandter Substanzen auf die Leber
 - 1.3 Eigene Fragestellungen
2. Material und Methode
 - 2.1 Planung und Durchführung der Tierversuche
 - 2.2 Histologie/Elektronenmikroskopie
 - 2.3 Auswertung der Ergebnisse
3. Veränderungen der Leberstruktur
 - 3.1 Leberveränderungen bei atherogener Diät
 - 3.2 Schutzeffekt einer Kombination aus Clofibrat und SMC gegenüber den Diät-induzierten Leberveränderungen
 - 3.3 Therapeutischer Effekt einer Kombination aus Clofibrat und SMC gegenüber den durch atherogene Diät induzierten Leberveränderungen
4. Zusammenfassung
5. Literatur

Anhang:

Histologische und elektronenmikroskopische Abbildungen (Abb. 4 - 23)

Lebenslauf

1. Wirkungen und Nebenwirkungen von Blutlipidreducern und chemisch verwandten Stoffen auf die Leber

1.1 Wirkungen von Clofibrat und verwandter Substanzen auf die Leber

Die Behandlung der symptomlosen Hyperlipidämien/Hyperlipoproteinämien mit Blutlipidreducern, neben die Lipidresorption hemmenden Stoffen wie Cholestyramin oder Colestipol vor allem mit Clofibrat, Nikotinsäure und Schilddrüsenhormon-Abkömmlingen, ist heute nach der vielfach gesicherten Bedeutung dieser Stoffwechselstörungen für die Wegbereitung atherosklerotischer Gefäßveränderungen keine "Laborkosmetik" (Arzneimittelbrief 1973) mehr, sondern zählt zu den Hauptaufgaben der präventiven Medizin. Da etwa 20 % der deutschen Bevölkerung diesen Risikofaktor Hyperlipidämie tragen (Daten aus SCHWARTZKOPFF u. ROETZ 1978), müssen die verwendeten Pharmaka wegen ihrer intensiven und verbreiteten Langzeitanwendung im therapeutischen Dosisbereich weitgehend frei von unerwünschten Nebenwirkungen sein.

Dies gilt für die oben zitierten Substanzen nur für das Clofibrat (FITZGERALD 1973, GREEN 1972, HAUSBRANDT u. GSTIRNER 1976, SCHWARTZKOPFF et al. 1973, SCHWARTZKOPFF u. ROETZ 1978, SCHWARTZKOPFF u. ZSCHIEDRICH⁺ 1978), da Nikotinsäure bzw. ihre Derivate (Xantinolnikotinat, 8-Pyridylcarbinol u.a.) in therapeutisch wirksamer Dosierung über die bereits bei niedriger Dosierung erscheinenden

⁺Literatur im Nachtrag

de vasodilatatorische Wirkungskomponente in einem hohen Prozentsatz zu funktionellen Störungen führt und über die damit verbundenen subjektiven Mißempfindungen die notwendige regelmäßige Einnahme und Therapiebefolgung in Frage gestellt wird. Andererseits sind auch hochgereinigte D-Isomere des Thyroxins oder chemisch abgeleitete Substanzen mit insgesamt beträchtlichen Restaktivitäten hormonaler Wirksamkeit behaftet, die ihre Anwendbarkeit stark einschränken. Die Anwendung von Nahrungscholesterin bindenden Austauschharzen stellt einen auf Sonderfälle beschränkten intensiven therapeutischen Eingriff dar, der für eine allgemeine Anwendung nicht geeignet ist.

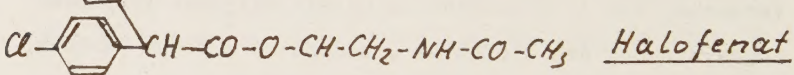
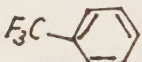
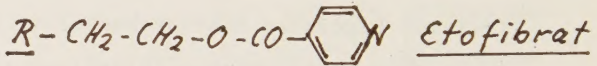
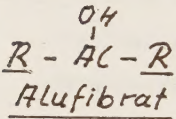
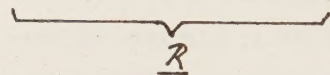
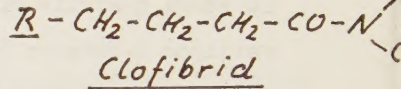
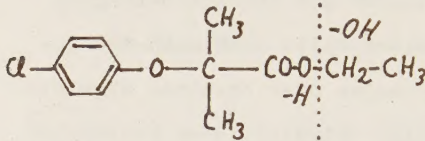
Versuche, die in Einzelfällen unbefriedigende lipidsenkende Wirkung des Clofibrat, besonders auf das Serumcholesterin, zu verstärken, haben zu zahlreichen chemischen Neuentwicklungen geführt (einige Formeln s. Abb. 1). Zu allen diesen bislang erfolgten Versuchen muß jedoch bemerkt werden, daß sie entweder

a/ weniger wirksam sind als die Stammverbindung Clofibrat durch pharmakokinetische Nachteile, wobei durch verminderte Resorption weniger hohe und schnelle Blutspiegel der eigentlichen Wirksubstanz Clofibrinsäure erzielt werden wie aus Clofibrat (HARVENGT u. DESAGER 1976, 1977) - dies gilt für Alufibrat und Clofibril, während Etofibrat, eine Verbindung aus Clofibrat mit Nikotinsäure, in der empfohlenen Dosierung (KAFFARNIK et al. 1975) für beide Komponenten hoffnungslos unterdosiert ist;

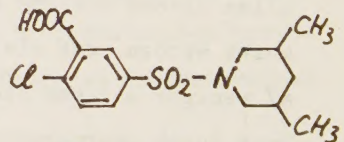
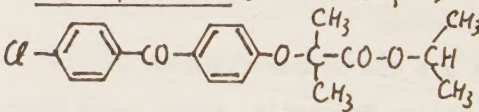
Abbildung 1: Strukturformeln behandelter Verbindungen

Clofibrat

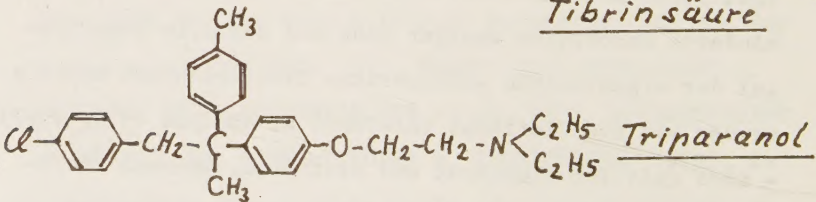
Clofibrinsäure



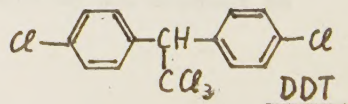
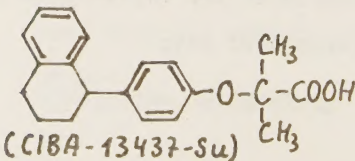
Fenofibrat (= Procetofen)



Tibrinsäure



Nafenonsäure



b/ ähnlich intensiv wirken wie Clofibrat, jedoch nur auf Serumtriglyzeride oder auf das Serumcholesterin, oder aber daß diese Substanzen im Gegensatz zu der seit Einführung 1962 (vgl. THORP) inzwischen millionenfachen Anwendung von Clofibrat für ihre klinische Wirkung und das Spektrum ihrer unerwünschten Nebenwirkungen zu wenig bekannt sind, als daß ihre Bedeutung zum gegenwärtigen Zeitpunkt realistisch abgeschätzt werden könnte - dies gilt für bestimmte Derivate des Clofibrat (GOLDBERG et al. 1977, LEWIS et al. 1974, OLSSON et al. 1977) wie für die bereits bekannteren Produkte Halofenat (ARONOW et al. 1973), Tibrinsäure (BIELMANN et al. 1977) oder Fenofibrat (Procetofen).

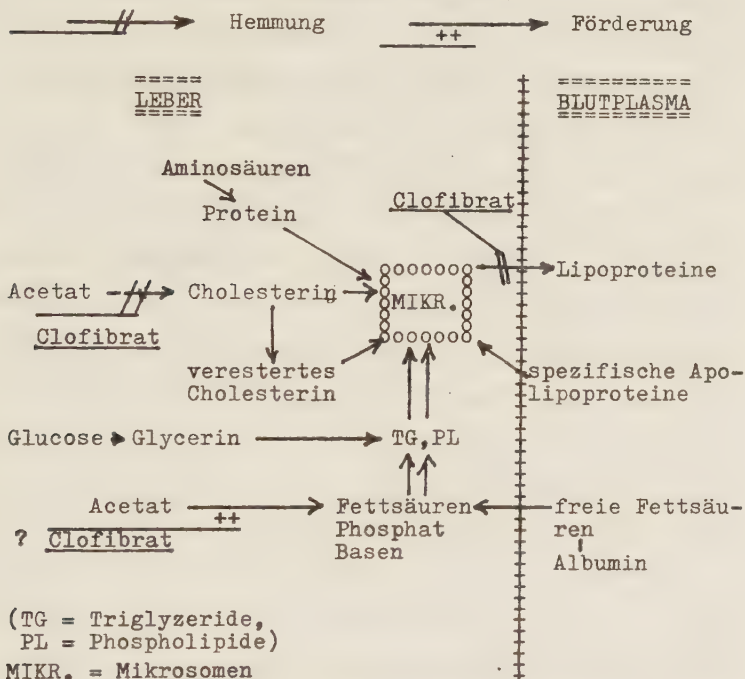
Welches Probleme sich bei ungenügender Erfahrung mit neuen Pharmaka ergeben können, soll am Beispiel von drei Blutlipidreducern kurz erwähnt werden. Das wirksame serumcholesterin-senkende Triparanol wurde durch das Auftreten irreversibler Augenveränderungen für die Therapie obsolet (Merck Index 1968). Zwei Derivate des Clofibrat, die Nafenonsäure (Ciba 13437-Su) und die Substanz 1-Methyl-4-piperidyl-bis (p-chlorophenoxy)-acetat (Sandoz SaH 42-348) mußten aus der klinischen Erprobung genommen werden (FITZGERALD 1973), nachdem trotz guter lipidsenkender Wirkung beim Menschen und nur von den Autoren als geringfügig erachteten Veränderungen der Leberfunktion (SCHÖNBECK et al. 1970; HUTH und SCHULTIS⁺ 1971) in Tierexperimenten der Verdacht auf Kanzerogenität wach wurde (KRITCHEVSKY und TEPPER 1973; BOCHNER et al.⁺ 1973, KATTERMANN et al.⁺ 1972).

Clofibrat mobilisiert bei Mensch (SODHI et al. 1973) und Tier, wie Versuche mit radioaktivem Cholesterin bei Ratten unter lipidreicher Diät (ROTHFELD et al. 1971) gezeigt haben, Cholesterin aus den Geweben und Organen. Hauptangriffsort der Hemmung der endogenen Cholesterinbiosynthese in der Leber durch Clofibrat ist das Enzym β -Hydroxy- β -methylglutaryl: Coenzym A-Reduktase, wonach ein Absinken des Lebercholesterins meßbar wird (GOLDBERG et al. 1977). Dieses Schlüsselenzym kontrolliert die Cholesterinneubildung - da es vermutlich eher durch die Nahrungsaufnahmen (EDWARDS et al. 1972) denn durch circadian wirksame Rhythmen (DUGAN et al. 1972) gesteuert wird, muß unter der Therapie eine gleichmäßige Hemmung (durch möglichst kontinuierliche Wirkstoffangebote) erfolgen, so daß sich Einmal-Tagesgaben verbieten.

Trotz sehr intensiver Bemühungen, die Literatur ist inzwischen völlig unübersichtlich geworden, ist der letztlich therapeutisch genutzte Effekt der Herabsetzung überhöhter Triglyzerid- wie Cholesterinspiegel im Blut immer noch unklar. Ein von GOULD und Mitarbeitern 1967 entworfenes Schema zur Clofibratwirkung auf den Lipidstoffwechsel der Leber hat bis heute Gültigkeit behalten - es wird nachfolgend dargestellt. Nach GOULD et al. beruht die Clofibrat-Wirkung in der Leber auf einer Hemmung der Biosynthese der Lipoproteine an den Mikrosomen durch Blockierung der endogenen Cholesterinbildung aus Acetat und Hemmung der Abgabe der kompletten Lipoproteinpartikel ins Blut. Trotz eines biochemisch beobachteten Anstiegs der Triglyzerid-

neubildung in der Leber sinken jedoch die Blutspiegel der Triglyzeride und erfolgt keine Leberverfettung.

Schema der Clofibrat-Wirkung auf den Lipidstoffwechsel in der Leber (nach GOULD et al. 1967)



? - Anmerkung: Der Angriffspunkt des Clofibrat bei der sehr deutlichen Senkung der Serumtriglyzeride ist umstritten. ADAMS et al. (1971) wollen tierexperimentell im Gegensatz zu den obenstehenden Angaben eine direkte Hemmung der Umwandlung von Acetat in Triglyzeride in der Leber gemessen haben.

1.2 Unerwünschte Nebenwirkungen von Clofibrat und verwandter Substanzen auf die Leber

Leichte und meist passagere Anstiege der leberspezifischen Enzyme Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT) und Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT) wurden für alle Verbindungen bekannt, die Ähnlichkeit mit chlorierten Phenoxyessigsäure besitzen, so auch für Halofenat (ARONOW et al. 1973), Tibrinsäure (BIELMANN et al. 1973), Nafenopin (KATTERMANN⁺ et al. 1972), mehrfach auch für Clofibrat (THORP 1962 bei Affen; nach 2 g/d vereinzelt beim Menschen: BIELMANN et al. 1977; vereinzelt beim Menschen: HAUSBRANDT und GSTIRNER 1976, SCHWARTZKOPFF et al. 1973). GREEN (1972) berichtet jedoch aus einer Langzeittherapieanalyse mit Clofibrat nichts über das Auftreten von Leberfunktionsstörungen und SCHWARTZKOPFF et al. (1973), die individuelle Serumenzymspiegelverläufe bis zu einem Jahr verfolgt haben sind der Ansicht, daß auch initiale Transaminasespiegel bis zu etwa 25 E/1000 ml kein Hinderungsgrund für die Aufnahme einer Clofibrattherapie darstellen, da sich unter der Therapie anfangs überhöhte Enzymspiegel sogar normalisieren können. In einer cross-over-Doppelblindstudie mit Placebo, 1,5 g Clofibrat/d und 1,56 g Sinteroid^R/d (einer Kombination aus 1,5 g Clofibrat mit 60 mg eines sulfatierten Glykosaminoglykans) über 30 Wochen wurden gleichfalls keine abnormen Transaminasewerte gesehen (vgl. Abb. 3).

Die Kontraindikation schwere Leber- und Nierenfunktions-

störungen für clofibrat-haltige Präparate ist daher nach den therapeutischen Erfahrungen nicht Ausdruck einer Schädigungsmöglichkeit dieser Organe, sondern besagt, daß bei beeinträchtigtem Umsatz der Substanz in der vorgeschädigten Leber oder bei verminderter Ausscheidung in der vorgeschädigten Niere bei therapeutischer Dosierung abnorm hohe Blut- und Gewebespiegel auftreten können, die dann zu toxischen Erscheinungen führen können.

Morphologisch faßbare Leberschäden, wie sie für eine Vielzahl von Substanzen mit echter hepatotoxischer Aktivität bekannt geworden sind, wie für Methotrexat, Barbiturate, Phenacetin, Tetrazykline u.a. (vgl. HÜBNER 1976), sind aus der Literatur für Clofibrat nicht bekannt geworden.

Nach all dem Gesagten wird verständlich, warum Clofibrat nicht in die Listen potentieller oder echter Hepatotoxika aufgenommen ist (ESTLER 1967, FELDMANN und BARLEBEN 1977).

Trotz der experimentell beobachteten Aktivierung der Triglyzeridbildung in der Leber sind unter Clofibrat keine echten Zunahmen des Körpergewichts im Sinne einer Adipositas bekannt - eine Fettsucht wird durch Blutlipidreducer (Clofibrat) nicht induziert (HEYDEN u.a., 1976).

Auch im Tierversuch wurde mit Clofibrat, in Verbindung mit einer kleinen Androsteron-Dosis, ohne Veränderung des Lebergewichtes[‡] und der Leberstruktur ein Anstieg der SGOT und des Leberenzymys beschrieben (THORP 1962). Nach KRISHNAKANTHA und KURUP⁺ (1972) sollen nach Clofibrat und Clofenapat in der Leber die Aktivitäten der Enzyme Katalase und Glycerinphosphat-Dehydrogenase erhöht sein und soll sich nach Clofibrat die Zahl der Mitochondrien

[‡]auch von AVOY et al. (1965) beobachtet

verdoppeln und nach Clofenapat der Gehalt an Mitochondrienprotein um 50 - 60 % ansteigen. HESS et al. (1967) beschreiben bei Ratten nach Clofibrat leicht erhöhte Lebergewichte. Feinstrukturelle diskrete Veränderungen an Lysosomen und Mitochondrien bei Nagetieren (PAGET 1963) und bei Schweinen (LEE et al. 1974) werden nach Einwirkung von Clofibrat berichtet, doch sind solche Beobachtungen oft gegensätzlich und werden auch sehr unterschiedlich interpretiert.

Im Gegensatz zu den leichten und passageren funktionellen Leberveränderungen und den nur wenig ausgeprägten strukturellen Veränderungen nach Clofibrat im Tierexperiment sind für das aus den klinischen Versuchen zurückgenommene Nafenopin (Ciba 13,437-Su) auch in biotischem Material vom Menschen Anzeichen für eine echte Hepatotoxizität beobachtet worden (KATTERMANN⁺ et al. 1972). Im Vergleich mit Clofibrat wird bei der Maus das Lebergewicht durch Nafenopin 6- bis 7fach stärker erhöht und nur nach Nafenopin erfolgt in andeuteter Dosisabhängigkeit eine Steigerung des DNS-Gehaltes der Hepatozyten um 30 bzw. 50 % (BECKETT⁺ et al. 1972).

Vermutlich werden auch beim Menschen wie beim Tier in einem gewissen Umfang, vermutlich zu Beginn der Langzeittherapie, in der Leber durch Clofibrat Enzyme des Arzneimittelabbaus induziert. Dies ist aus Versuchen an Ratten bestätigt (LEWIS et al. 1974). Da aus der inzwischen über 15jährigen Therapiegeschichte des Clofibrat kaum Mitteilungen über Arzneimittelreferenzen vorliegen (HAUSBRANDT und GSTIRNER 1976), kommt diesem Geschehen für therapeutische Dosierungen beim Menschen offenbar keine große Bedeutung zu.

Bei kritischer Betrachtung der in der Literatur beschriebenen Veränderungen fällt besonders der auch in toxikologisch angelegten Tierversuchen ausgeprägte Unterschied zwischen Clofibrat und anderen, als pathogen erkannten Verbindungen auf, die sich vom Clofibrat oft nur durch geringe molekulare Details unterscheiden. Unter einer ganzen Serie geprüfter Substanzen (THORP 1962) war Clofibrat am wirksamsten und mit der geringsten Rate von Nebenwirkungen behaftet. Bei der chemischen Verwandtschaft zwischen den lipidsenkenden Chlorphenoxysäuren mit den für Säugetiere hochtoxischen polychlorierten insektiziden Phenylen (vgl. DDT in Abb. 1) (Literatur z.B. BÄR 1974, MÜLLER-RÜEGSEGGER 1974) müssen im Gegensatz zum "Altspezifikum" Clofibrat chemische Neuentwicklungen mit sehr viel Vorsicht empfangen werden.

1.3 Eigene Fragestellungen

Kombinationen von Clofibrat mit vasoaktiven Blutlipidsenkern wie Nikotinsäure und ihren Derivaten müssen als sinnlos bezeichnet werden (SCHWARTZKOPFF und ZSCHIEDRICH 1978), da sie bezüglich effektiver Lipidsenkung keine Verbesserung zeigen.

Clofibrat senkt die Serumlipide über eine intrahepatische Hemmung der endogenen Cholesterinbiosynthese und über eine Hemmung der Abgabe der Lipoproteine, eventuell auch über eine Hemmung der intrahepatischen Triglyzeridsynthese (ADAMS et al. 1971, im Gegensatz zu GOULD et al. 1967). Clofibrat hat keine Wirkung auf die Hyperlipidämien, die durch intravenöse Injektion von Triton bei Ratten induziert werden (THORP und WARING 1962). Gerade diese Hyper-

lipidämie dient jedoch der Standardisierung des natürlichen sulfatierten Glykosaminoglykans (= Sulfomukopolysaccharid-Complex = SMC), dem Kombinationspartner des Clofibrat im Sinteroid^R (Fa. Dr. Rentschler, Arzneimittel GmbH & Co., 7959 Laupheim). Weiterhin ist eine direkte Einflußnahme von Clofibrat auf atherogene, mit dem Lipidstoffwechsel zusammenhängende Gefäßveränderungen unbekannt, während über Interaktionen zwischen SMC und Gefäßwand zahlreiche Publikationen vorliegen (Literatur bei ROETZ und MERKER, 1978, sowie SCHWARTZKOPFF und ROETZ 1978). Es sollte daher in Nachahmung medizinischer Sachverhalte geprüft werden, ob eine Mischung aus Clofibrat mit SMC bei oraler Applikation im Futter die durch lipid-, speziell cholesterinreiche Diät im Tierexperiment zu erzeugenden Leberveränderungen zu verhindern oder zu beseitigen in der Lage ist. Gleichzeitig sollte nach ultrastrukturellen Veränderungen gefahndet werden, die eventuell als Folge der Clofibrat-Applikation bei den nahrungsgeschädigten Versuchstieren zu erwarten waren. Als Versuchstiere wurden Wistarratten gewählt, von denen inzwischen bekannt ist, daß ihre Pharmakokinetik des Clofibrat unter allen Versuchstieren (mit Ausnahme von Primaten) der des Menschen am ähnlichsten ist (CAYEN 1977). In der vorliegenden Arbeit werden die Veränderungen der Leberstruktur besprochen - die sehr eindrucksvollen Gefäßveränderungen aus diesen Versuchen sind inzwischen von ROETZ und MERKER (1978) inzwischen publiziert worden.

2. Material und Methode

2.1 Planung und Durchführung der Tierversuche

Als Versuchstiere dienten erwachsene, 200 - 250 g schwere Wistarratten beiderlei Geschlechts aus der Tierzucht des Instituts für Pharmakologie, Abt. Embryonalpharmakologie, der Freien Universität Berlin. Je Versuchsgruppe wurden 15 Tiere eingesetzt; von denen keines während der Dauer des Versuchs verstarb.

Die Tiere erhielten Wasser und Futterpellets ad libitum. Als durchschnittliche Futteraufnahme je 200 g Körpergewicht wurden 15 g/Tag ermittelt. Nach 6 Wochen wurden aus jeder Versuchsgruppe 7, nach 12 Wochen die restlichen 8 Ratten getötet und morphologisch ausgewertet.

Verwendete pelletierte Diäten:

Diät I - normales Rattenfutter ssniff^R R (Fa. Plange, Soest);

Diät II - für diesen Versuch erstellte Abwandlung der cholesterinreichen Diät Nr. 1/23 (Fa. Plange, Soest), bestehend aus

- 5 % Cholesterin
- 20 % Casein
- 16 % Saccharose
- 20 % Butter
- 30 % Cellulose
- 1 % Vitaminmischung
- 6 % Mineralsalzmischung

Diät III - wie Diät II, jedoch mit Beimengung (vor Pellettierung) von 168,6 g Clofibrat plus 6,6 g SMC (natürliches Sulfomukopolysaccharid-Komplex, Fa. Dr. Rentschler, Laupheim) je 50 kg Futtermasse.

Substanzaufnahme: mit der durchschnittlich aufgenommenen Futtermenge von 15 g/d wurden pro 200 g Ratte ca. 50 mg Clofibrat plus 2 mg SMC (entsprechend 250 bzw. 10 mg/kg) aufgenommen - dies entspricht etwa der 10fachen therapeutischen Dosis von Sinteroid^R (Fa. Dr. Rentschler, Laupheim).

Aufbau und Kennzeichnung der Versuchsgruppen:

Gruppe	1. - 6. Woche	7. - 12. Woche	Bemerkung
A	a Diät I	b Diät I	Kontrollen
B	a Diät II	b Diät II	atherogene Diät
C	a Diät III	b Diät I	"Prophylaxe"
D	a Diät II	b Diät III	"Therapie"

Gruppe C wurde eingeführt, um zu untersuchen, ob sich Veränderungen bei atherogener Diät durch gleichzeitige Gabe der Wirksubstanzen Clofibrat + SMC verhindern lassen. Gruppe D wurde eingeführt um zu untersuchen, ob bereits eingetretene Veränderungen durch therapeutische Gabe der Wirksubstanzen bei beibehaltenen Schadfaktoren zurückgebildet bzw. ihre weitere Ausbildung verhindert werden kann.

2.2 Histologie/Elektronenmikroskopie

Für die lichtmikroskopische Untersuchung erfolgte die Fixierung der Organe und Gewebe in 4%igem Formalin, die Einbettung in Paraffin und die Anfärbung mit HE und Azan. (Die histologischen Abbildungen im Bildanhang tragen die Nr. 4 - 13).

Die für die elektronenoptische Auswertung bestimmten Organentnahmen wurden in einer Lösung aus 3 % Paraformaldehyd und 3 % Glutaraldehyd in 0,2 M Kakodylatpuffer (pH 7,2) fixiert. An die Fixierung schlossen sich an: Nachfixierung mit 1 % Osmiumtetroxid, Entwässerung, Einbetten in Mikropal und Nachkontrastierung mit Uranyl-Bleiacetat. Die Aufnahmen (Nr. 14 - 23 im Bildanhang) wurden mit dem Elektronenmikroskop EM 10 im Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin angefertigt.

Zuordnung der Abbildungen im Bildanhang zu den einzelnen Versuchsgruppen:

Gruppe A Abb. 4, 7; 14, 15, 16

Gruppe Ba Abb. 5, 8, 9; 17

 " Bb Abb. 6; 18, 19

Gruppe Ca Abb. 10, 11; 20, 21

 " Cb Abb. 13

Gruppe D Abb. 12; 22, 23

2.3 Auswertung der Ergebnisse

Die Interpretation der strukturellen Veränderungen in der Leber erfolgt vergleichend morphologisch. Zur objektiven Überprüfung der gesehenen Unterschiede der Leberstrukturen in den einzelnen Versuchsgruppen wurde eine Blindbeurteilung von Leberschnittserien durchgeführt. Hierzu wurden aus den nach 6 Wochen getöteten Tieren 300 (je 100 Schnitte der Gruppen A, B und C) sowie aus den nach 12 Wochen getöteten Tieren 400 (je 100 Schnitte der Gruppen A, B, C und D) Leberschnitte unregelmäßig durchnummeriert (Zahlen-"Mischung") und dann nach Unterscheidungstraining für A und B (6-Wochen-Versuch) bzw. für A, B und D (12-Wochen-Versuch) anhand typischer Befunde klassifiziert.

Die Ergebnisse der Klassifizierungen sind in den nachstehenden Tabellen zusammengefaßt und in Abb. 2 dargestellt.

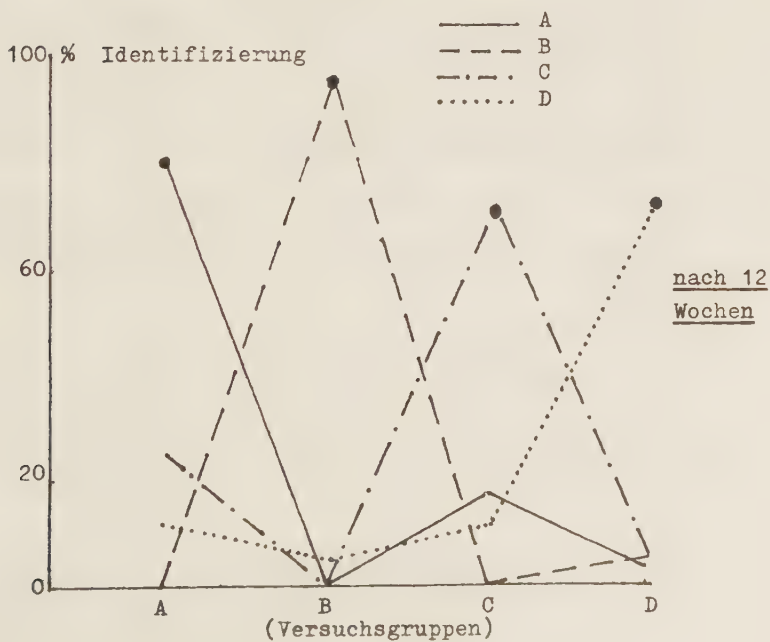
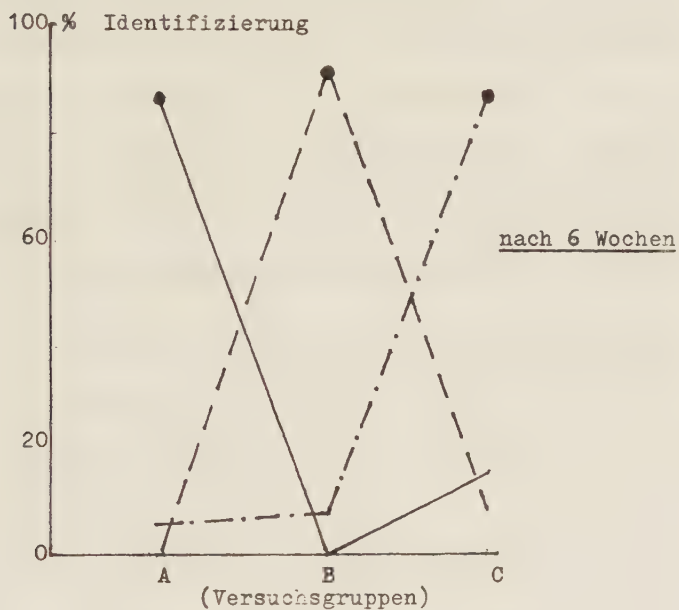
a) Leberidentifizierung (n = %) im 6-Wochen-Versuch

	A	B	C
A	85	--	15
B	--	92	8
C	6	8	86

b) Leberidentifizierung (n = %) im 12-Wochen-Versuch

	A	B	C	D
A	80	--	17	3
B	--	95	--	5
C	24	--	71	5
D	11	5	12	72

Abbildung 2: Ergebnisse der Blindbeurteilung der histologischen Leberpräparate



Bei der Blindbeurteilung der Leberveränderungen nach sechswöchigem Experiment war eine einwandfreie Zuordnung der Präparate zu den drei Tiergruppen in 85 - 92% möglich. Verwechselungen zwischen der unbehandelten Kontrollgruppe (A) und der "Prophylaxegruppe" (C) lagen bei ca. 10 %, während die Veränderungen nach atherogener Diät (B) gegenüber den Normalstrukturen (A) verwechselungsfrei klassifiziert werden konnten. Daß die "Prophylaxe" nicht vollständig war, zeigt neben der deutlichen Unterscheidung zur Kontrollgruppe auch eine geringe gegenseitige Verwechselung (ca. 7%) zwischen Prophylaxegruppe und Gruppe nach atherogener Diät. Die Schnittbeurteilungen zwischen den vier Versuchsgruppen bei Ende des Experiments ergeben ein ähnliches Resultat. Der Anteil "positiver" Verwechselungen zwischen unbehandelten Kontrolltieren und denen der Prophylaxegruppe beträgt jetzt etwa 20 % (41 von 200). In der "Therapiegruppe" (D) überwiegt der Anteil "positiver" Verwechselungen (31) den Anteil "negativer" Verwechselungen (10) mit den nur atherogen gefütterten Tieren deutlich.

Insgesamt kann aus den Blindbeurteilungen gefolgert werden, daß bei eindeutiger und signifikanter (s. n. S.) Zuordnung der Leberschnitte zu den Versuchsgruppen durch einen trainierten Untersucher der "Trend" zur Restitution

der gestörten Leberstrukturen durch Therapie mit Clofi-
brat + SMC bzw. der Schutz der Leber vor Schädigung durch
atherogene Diät bei Zufütterung von Clofibrat + SMC deut-
lich sichtbar wird.

Prüfung auf Signifikanz der Unterschiede zwischen Behand-
lungsgruppen mittels 2 x 2 - Tafel (nach L. CAVALLI-SFOR-
ZA: Biometrie, Fischer, Stuttgart 1969, S. 55 - 58)

Wertegruppierung

Berechnung des χ^2 nach:

a	b	a+b
c	d	c+d
a+c	b+d	n=a+b+c+d

$$\chi_1^2 = \frac{[(a \times d - b \times c) - \frac{1}{2}n]^2 \times n}{(a+b)(a+c)(b+d)(c+d)}$$

a) Vergleich zwischen den Gruppen B und C nach sechs Wochen

	B	C	
B	92	8	100
C	8	86	94
	100	94	194

$$\chi_1^2 = 131,9, \text{ d.h. } p \ll 0,01$$

b) Vergleich zwischen den Gruppen A und C nach 12 Wochen

	A	C	
A	80	17	97
C	24	71	95
	104	88	192

$$\chi_1^2 = 61,0, \text{ d.h. } p \ll 0,01$$

c) Vergleich zwischen den Gruppen C und D nach 12 Wochen

	C	D	
C	75	5	76
D	12	72	84
	83	77	160

$$\chi_1^2 = 96,9, \text{ d.h. } p \ll 0,01$$

Wegen der noch eindeutigeren Verhältnisse zwischen den
anderen Gruppen wurde auf weitere Berechnungen verzichtet.

3. Veränderungen der Leberstruktur

3.1 Leberveränderungen bei atherogener Diät

Die Verfütterung der lipid-, speziell cholesterin-reichen Diät führt bei den Versuchstieren zunächst zu einer deutlichen Stagnation der Zunahme des Körpergewichts. Die Lebendgewichte der Kontrolltiere nehmen im Durchschnitt von 220 ± 10 g nach 6 Wochen auf 255 ± 14 g und nach 12 Wochen auf 293 ± 18 g zu, die der lipid-belasteten Ratten von 230 ± 12 g nur auf 237 ± 19 g bzw. 248 ± 20 g. Bei der Sektion waren die Lebern massiv vergrößert, gelblich verfärbt und von "butterweicher" Konsistenz. Die übrigen Organe der Versuchstiere zeigten keine spezifischen Veränderungen.

Den äußeren Veränderungen parallel gingen Veränderungen der Leberstruktur. Über das gesamte Organ verteilt fand sich sehr gleichmäßig verteilt eine starke fettige Degeneration der Hepatozyten (Abb. 8, 9, 18), wobei das Cytoplasma durch große Lipidvakuolen stark an den Zellrand zusammengedrängt wird. Zell- und Zellkernmembranen werden nur noch unscharf darstellbar (Abb. 17) und Anzeichen für pyknotische Veränderungen des Zellkerns treten auf. Die Intensität dieser Veränderungen nimmt mit der Dauer der Lipidüberlastung zu. Ähnlich verhalten sich Veränderungen der Blutgefäße (Abb. 5 und 6). Auch in der Umgebung der Gefäße in der Leber erscheinen ultrastrukturelle Veränderungen (Abb. 19). Diese strukturellen Schädigungen

betreffen neben dem Endothel vor allem die bindegewebigen Anteile der Blutgefäße und sind bereits ausführlich von ROETZ und MERKER (1978) publiziert. Hierbei wurde festgestellt, daß die durch atherogene Diät erzeugte endotheliale Schädigung (vgl. Abb. 6) sowie die Zunahme kollagener Fibrillen sowohl in der Prophylaxe- wie in der Therapie-Gruppe durch Clofibrat plus SMC weitgehend verhindert bzw. rückgebildet werden konnten, wofür neben der lipidsenkenden Wirkung des Clofibrat die spezielle bindegewebsaktive Wirkung des sulfatierten Glykosaminoglykans zur Erklärung herangezogen wird.

Die diätbedingten Leberveränderungen entsprechend weitgehend denen, die aus der Literatur (z.B. ESTLER 1967, HÜBNER 1976) nach Einwirkung direkter Lebergifte wie u.a. Tetrachlorkohlenstoff, DDT, Tetrazyklinen, Alkohol oder Dimethylnitrosamin beschrieben wurden. Durch exogene exzessive Lipidüberlastung wird also anscheinend ein ähnliches strukturelles Reaktionsmuster induziert wie durch toxische Substanzen. Da die Enzymausstattung der menschlichen Leber in qualitativer wie quantitativer Hinsicht der Rattenleber weitgehend gleicht (SCHMIDT et al. 1958), ist das in diesen Versuchen verwendete Tiermodell brauchbar für Vergleichszwecke. Da die nach Lipidüberlastung auftretenden massiven Veränderungen auf die Leber beschränkt sind, kann vermutet werden, daß trotz massiver exogener Lipidzufuhr die endogene Lipidsynthese fortgesetzt wird, jedoch kein ausreichender Abtransport der Lipoproteine aus der Leber mehr erfolgt - hierdurch wäre dann eine endogene Verfettung verständlich.

3.2 Schutzeffekt einer Kombination aus Clofibrat und SMC gegenüber den Diät-induzierten Leberveränderungen

In diesem Versuch erhielten die Tiere zunächst 6 Wochen lang die atherogene Diät mit Beimischung von Clofibrat plus SMC, so daß bei einer täglichen Futteraufnahme von ca. 15 g/Tier täglich ca. 250 mg Clofibrat plus 10 mg SMC je kg Körpergewicht appliziert wurden. Diese Substanzmenge entspricht etwa der 10fachen therapeutischen Dosis beim Menschen. In diesem Zeitraum stieg das Gewicht der Ratten von durchschnittlich 225 ± 14 g auf 241 ± 12 g an, während es in der anschließenden 6wöchigen Phase mit normalem Rattenfutter auf 282 ± 17 g anstieg.

Bereits durch Zufütterung von Clofibrat + SMC war die Gesamtentwicklung der Tiere weniger stark beeinträchtigt als nach atherogener Diät allein. Bereits nach der ersten Versuchsphase waren bei der Sektion die Lebern nur noch geringgradig vergrößert, von nahezu normaler Farbe und von fester Konsistenz (wie bei den normalen Kontrolltieren). In den histologischen Präparaten (Abb. 10 und 11) und elektronenmikroskopischen Präparaten (Abb. 20 und 21) weisen nur noch einzelne Areale eine klein-vakuoläre Lipideinlagerung in den Hepatozyten auf, daneben kommen völlig normale Parenchymzellen vor. Die Organellen und Zellmembranen sind normal strukturiert. Nach der anschließenden sechswöchigen "Erholungsphase" gleichen sich die Organe immer mehr denen der unbehandelten Kontrolltiere an (z.B. Abb. 13), obgleich in der Blindauswertung eine eindeutige Zuordnung der Leberschnitte in die Versuchsgruppe durch

einen trainierten Untersucher weiterhin möglich ist. Anzeichen für eine Leberschädigung durch die applizierten Substanzen wurden nicht beobachtet. Die Zunahme an "positiven" Verwechselungen mit Kontrollpräparaten betrug zum Ende der Untersuchung ca. 20% (Abb. 2) und es muß angenommen werden, daß die hier geprüfte und dem Präparat Sinteroid^R zugrundeliegende Kombination aus Clofibrat plus SMC bei oraler Applikation die dramatischen Leberveränderungen lipid-überlasteter Ratten weitgehend zu verhindern vermag.

3.3 Therapeutischer Effekt einer Kombination aus Clofibrat und SMC gegenüber den durch atherogene Diät induzierten Leberveränderungen

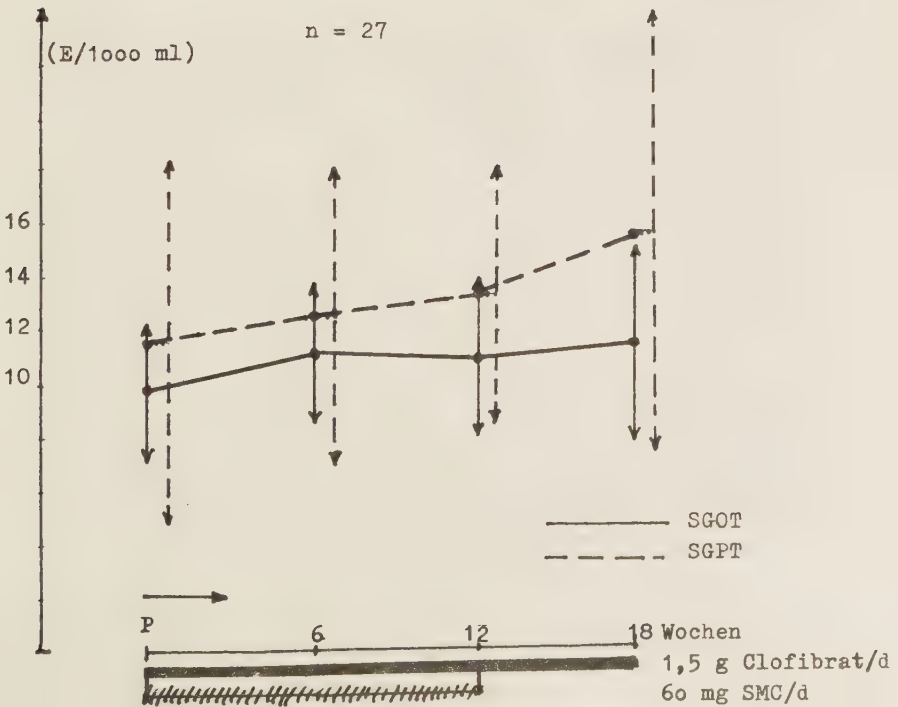
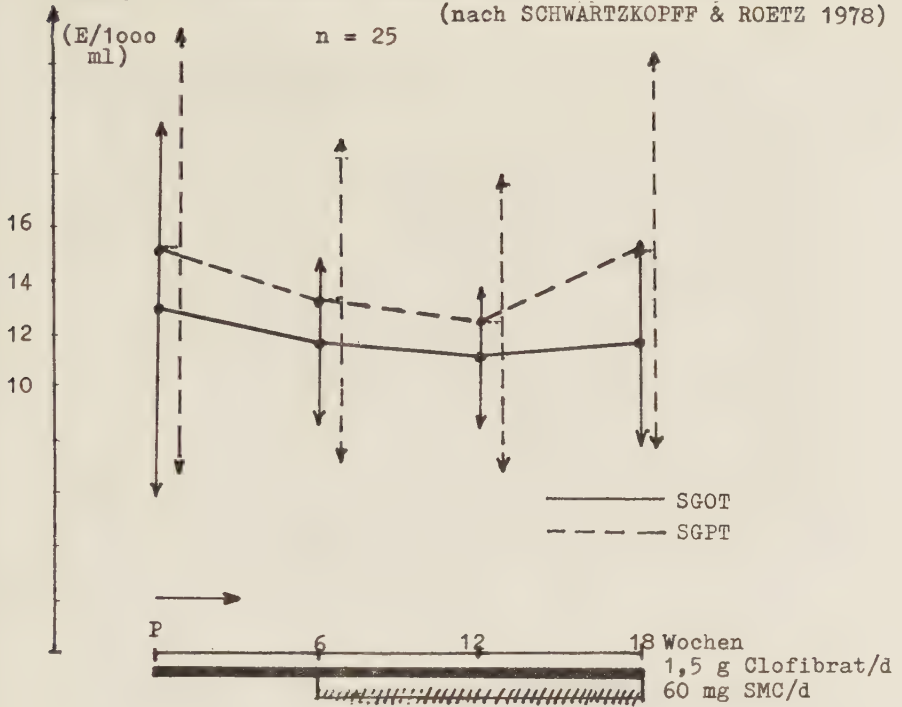
In dieser Versuchsgruppe waren 6 Wochen nach atherogener Diät die durchschnittlichen Rattengewichte von 231 ± 11 g auf nur 240 ± 17 g angestiegen. Bei der Sektion zeigten die Lebern, wie auch im histologischen und elektronenmikroskopischen Bild, die schon von den Tieren der unbehandelten Belastungsgruppe bekannten Veränderungen (vgl. 3.1). In den nachfolgenden 6 Wochen erhielten die Tiere im atherogenen Futter 250 mg Clofibrat plus 10 mg SMC/kg appliziert. Die durchschnittlichen Gewichte der Ratten nahmen in dieser Therapiephase von 240 ± 17 g auf 283 ± 19 g zu. Bei den Sektionen zeigten die Lebern neben einer nur geringen Organvergrößerung weitgehend normale Farbe und Konsistenz. Die Strukturen der Leberparenchymzellen (Abb. 12, 22 und 23) zeigten Veränderungen, die im Ausmaß zwischen denen

unbehandelter lipid-überlasteter Tiere und Tieren der Prophylaxegruppe lagen. In weiten Bereichen des Organs fanden sich Hinweise für eine weitgehende Restitution des Parenchyms (Abb. 12). Neben der aus der Prophylaxegruppe bekannten kleinvakuoligen Lipideinlagerung (z.B. Abb. 22) sind die Zellorganellen, vor allem die Mitochondrien und das rauhe endoplasmatische Retikulum, sowie die Zellmembranen ohne pathologische Veränderungen (Abb. 23). Der Kombination aus Clofibrat plus SMC kommt in der verwendeten Dosis eine eindeutige therapeutische Wirkung auf die lipidinduzierten Leberveränderungen bei der Ratte zu.

Veränderungen, wie sie für eine Eigentoxizität des Clofibrat bei der Ratte von verschiedenen Autoren (HESS et al. 1967, KRISHNAKANTHA und KURUP⁺ 1972, LAMB et al. 1977, LEE et al. 1974, LEWIS et al. 1974, PAGET 1963) mit ähnlichen Dosierungen beschrieben worden sind, konnten nicht aufgefunden werden. Desgleichen fehlten Anzeichen für eine gesteigerte Proliferation oder DNS-Synthese, wie sie nach den Verbindungen mit Verdacht auf Karzinogenität aus Tierversuchen her aufgefunden worden sind (BECKETT⁺ et al. 1972, BOCHNER⁺ et al. 1973, KATTERMANN⁺ et al. 1972, KRITCHEVSKY und TEPPER 1973, LAMB et al. 1977). Auch Veränderungen, wie sie in der Leber nach Hexachlorophen auftreten (KORANSKY und SCHULTE HERRMANN 1969) wurden nicht beobachtet. Trotz der in toxikologischen Versuchen mit Clofibrat beobachteten Induktion zahlreicher Enzyme (z.B. LEWIS et al. 1974) in der Leber konnten ultrastrukturelle Veränderungen der Mitochondrien, wie von LEE et al. (1974)

Abb. 3: Transaminasen unter Clofibrat/Sinteroid^R

(nach SCHWARTZKOPFF & ROETZ 1978)



in Schweinelebermitochondrien nach 6 Wochen Applikation von Clofibrat als bündelartige Strukturen beschrieben (es könnte sich um tubuläre Aggregationen von Cytochrom P-420 handeln; vgl. SHOEMAN et al. 1963), gleichfalls in den Versuchen an vorgeschädigter Leber oder bei gleichzeitiger Leberschädigung nicht aufgefunden werden.

Durch die sehr ähnliche Pharmakokinetik des Clofibrat bei Ratte und Mensch (CAYEN 1977) sowie die weitgehende identische Enzymausstattung von Ratten- und Menschenleber dürfte einer vorsichtigen Übertragung der tierexperimentellen Ergebnisse auf den Menschen nichts im Wege stehen. Bei der klinischen Prüfung der Kombination Sinteroid^R konnten SCHWARTZKOPFF und ROETZ (1978) zeigen (vgl. Abb. 3), daß auch für die funktionellen Leberparameter SGOT und SGPT keine wesentlichen oder eindeutigen Veränderungen zu messen sind.

Um so weniger für eine Übertragung auf therapeutische Ge-
geeignet
gebenheiten muten daher die Untersuchungen von JAKOB et al. (1977) an, die in Gewebekulturen mit L-Zellen oder Mediamuskelzellen aus Kälberaorta analog zur Wirkung der herbiziden 2,4-Dichlor- und 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäuren mit Clofibrinsäure im therapeutischen Dosisbereich eine dosisabhängige, jedoch reversible Wachstumshemmung und Anreicherung von Lipiden in den Zellen beschrieben haben. Versuche dieser Art liegen außerhalb jeder Übertragungsmöglichkeit auf das therapeutische Geschehen im menschlichen Organismus, dessen Imitation eines der Anliegen der hier vorgelegten Versuche war.

4. Zusammenfassung

1. An zusammen 60 Wistarratten beiderlei Geschlechts wird in einem insgesamt 12wöchigen Versuch der Einfluß einer lipid-, speziell cholesterinreichen Diät auf die Leber sowie die Wirkung einer gleichzeitigen (sog. "Prophylaxe-Gruppe") und einer nach Vorschädigung folgenden (sog. "Therapie-Gruppe") Zufütterung von täglich ca. 250 mg Clofibrat/kg plus ca. 10 mg/kg Körpergewicht eines natürlichen standardisierten Glykosaminoglykans (SMC) untersucht. Die Veränderungen der Leberstruktur werden histologisch und elektronenmikroskopisch nach 6 und 12 Wochen dargestellt. Die histologischen Schnitte werden einer Blindbeurteilung unterzogen.

2. Die lipidreiche "atherogene" Diät induziert bereits nach 6 Wochen eine schon makroskopisch deutlich sichtbare massive Vergrößerung und Verfettung der Leber. In den Leberzellen treten große lipidhaltige Vakuolen auf, die zum Teil die Zellen vollständig ausfüllen und die das gesamte Organ nahezu gleichmäßig befallen. In vielen Zellen zeigen die Kerne pyknotische Veränderungen. Zell- und Zellkernmembranen lassen sich nur undeutlich darstellen.

3. Diese Veränderungen werden in der Prophylaxegruppe weitgehend unterdrückt. In dieser Gruppe erhielten die Tiere zunächst für 6 Wochen die atherogene Diät mit gleichzeitiger Zumischung von Clofibrat + SMC und anschließend für 6 Wochen eine Normaldiät. Bereits nach 6 Wochen zeigen die nur gering vergrößerten Lebern eine nur mäßige und nur in einigen Arealen deutliche kleinvakuoläre Lipideinlagerung, die Membranen sind deutlich darstellbar. In

der nachfolgenden "Erholungsphase" nimmt die Tendenz zur Normalisierung weiter zu.

4. In der Therapiegruppe erfolgt die Substanz-Zufütterung mit der atherogenen Diät erst nach 6wöchiger diätetischer Vorschädigung. Auch in dieser Versuchsgruppe sind die Veränderungen der Leberstruktur deutlich geringer ausgeprägt als in der Gruppe mit unbehandelter Schädigung, auch in dieser Versuchsgruppe finden sich Anzeichen für eine Re-stitution unter der Therapie.

5. Weder im histologischen Bild noch in den elektronen-mikroskopischen Aufnahmen finden sich Hinweise auf eine Leberschädigung durch die eingesetzten Substanzen Clofibrat plus SMC. Die aus veröffentlichten Tierexperimenten bekannten Beobachtungen über Leberveränderungen durch Clofi-brat und ähnliche Blutlipidreducer werden beschrieben und mit den funktionellen Leberveränderungen unter der Thera-pie mit Blutlipidreducern verglichen. Hierbei fällt auf, daß trotz der über 15jährigen intensiven klinischen An-wendung von Clofibrat nur in seltenen Einzelfällen über stärkere funktionelle Leberveränderungen berichtet wird im Gegensatz zu anderen chemisch-ähnlichen Verbindungen, von denen einige wegen des Auftretens irreversibler (kar-zinogener ?) Leberveränderungen im Tierversuch aus bereits angelaufenen oder abgeschlossenen (!) klinischen Prüfungen genommen werden mußten. Man muß annehmen, daß alle Neu-schöpfungen chemischer Lipidreducer im Gegensatz zum Clo-fibrat ihre generelle Unschädlichkeit (und ihre Unschäd-lichkeit gegenüber der Leber) noch beweisen müssen.

5. Literatur

- ADAMS, L.L., W.W. WEBB and H.J. FULLON: Inhibition of hepatic triglyceride formation by clofibrate.
J. clin. Invest. 50, 2339 - 2346 (1971)
- ARONOW, W.S., P.B. HARDING, M. KHURSHEED, J.S. VANGROW, N.P. PAPAGEORGE'S, and J. MAY: Effect of halofenate on serum lipids.
Clin. Pharmacol. Therapeut. 14, 358 - 365 (1973)
- ARZNEIMITTELBRIEF: Behandlung von Hyperlipidämien: Nur eine Laborkosmetik ?
Arzneimittelbrief 9, 85 - 89 (1975)
- AVOY, D.B., E.A. SWRYD, and R.G. GOULD: Effects of alpha-p-chlorophenoxyisobutyryl ethyl ester (CPIB) with and without androsterone on cholesterol biosynthesis in rat liver.
J. Lipid Res. 6, 369 - 376 (1965)
- BÄR, F.: Der Nachweis von Insektiziden in Nahrungsmitteln und die Bedeutung für die Gesundheit.
Dtsch. med. J. 15, 672 - 680 (1964)
- BIELMANN, P., D. BRUN, S. MOORJANI, M.A. GAGNON, L. TETREAULT, and P.J. LUPIEN: Hypolipidemic effect of fibric acid. A comparison with clofibrate and placebo in type IV hyperlipoproteinemia.
Int. J. Clin. Pharmacol. 15, 166 - 171 (1977)
- CAYEN, M.N.: Das Stoffwechselverhalten von Clofibrat in Labortieren und beim Menschen.
Internat. Sympos. on Drug Activity, Jerusalem 27. 3. - 1. 4. 1977 (Referat in: Dtsch. Apoth.-Ztg. 117, 547 (1977)).
- DUGAN, R.E., L.L. SLAKEY, A.V. BRIEDIS, and J.W. PORTER: Factors affecting the diurnal variation in the level of β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A reductase and cholesterol-synthesizing activity in rat liver.
Arch. Biochem. Biophys. 152, 21 - 27 (1972)

- EDWARDS, P.A., H. MUROYA, and R.G. GOULD: In vivo demonstration of the circadian rhythm of cholesterol biosynthesis in the liver and intestine of the rat.
J. Lipid Res. 13, 396 - 401 (1972)
- ESTLER, C.-J.: Arzneimittel als Ursache toxischer Leberschädigungen.
Fortschr. Med. 85, 549 - 554 (1967)
- ESTLER, C.-J.: Hepatotoxische Arzneimittel.
Fortschr. Med. 85, 546 - 547 (1967)
- FELDMANN, H.U., und P. BARLEBEN: Medikamente, die toxische Wirkungen auf die Leber haben können.
Medizin 5, 2224 - 2226 (1977)
- FITZGERALD, J.D.: Lipidsenkende Substanzen und Fettstoffwechsel.
In: KUEMMERLE, H.P., E.R. GARRETT und K.H. SPITZY (eds.): Klinische Pharmakologie und Pharmakotherapie. Urban u. Schwarzenberg, München usw.
1973, 2. Aufl., S. 615 - 633
- GOLDBERG, A.P., W.S. MELLON, D.P. WITIAK, and D.R. FELLER: Comparison of hypocholesterolemic activity for cyclic analogs of clofibrate in normolipemic rats.
Atherosclerosis 27, 15 - 25 (1977)
- GOULD, R.G.: The effects of alpha-p-chlorophenoxyisobutyrate on the synthesis and release into plasma of lipoproteins in rats.
Progr. Biochem. Pharmacol. 2, 345 - 357 (1967)
- GREEN, K.G.: Five-year follow-up of multicentre trial of clofibrate ("atromid"-S) in patients with coronary heart disease.
Prevent 1, 77 - 86 (1972/1973)
- HARVENGT, C., and J.P. DESAGER: Pharmacokinetic study and bioavailability of three marketed compounds releasing p-chlorophenoxyisobutyric acid (CPIB) in volunteers.
Int. J. Clin. Pharmacol. 14, 113 - 118 (1976)

- HARVENGT, C., and J.P. DESAGER: Plasma clofibric acid (CPIB) levels induced by three marketed compounds releasing clofibric acid, in volunteers. *Int. J. Clin. Pharmacol.* 15, 1 - 4 (1977)
- HAUSBRANDT, F., und F. GSTIRNER: Handbuch der Störfwirkungen durch Pharmaka. Verlag für Medizin Dr. E. Fischer, Heidelberg 1976, S. 295
- HESS, R., W. RIESS, and W. STÄUBLI: Hepatic actions of hypolipidaemic drugs: Effect of ethyl chlorophenoxyisobutyrate (CPIB). *Progr. biochem. Pharmacol.* 2, 325 - 336 (1967)
- HEYDEN, S.; SCHETTLER, G., und H. GRETEN; SCHMID, K.; STEICHELE, C., und S. PAPP-VARY: Fettsucht durch Lipidsenker ? *Selecta* 1976, 4030 - 4034
- HÜBNER, K.: Morphologie der Arzneimittelschäden der Leber. *Therapiewoche* 26, 594 - 604 (1976).
- JAKOB, W., B. MAUERSBERGER, K. KRIES, und A. MINENKO: Proliferationshemmung und Lipidspeicherung in Zellkulturen durch Clofibrinsäure (RegadrinR). *Pharmazie* 32, 798 - 800 (1977)
- KAFFARNIK, H., J. SCHNEIDER und W. HAASE: Etofibrat und Clofibrat im Doppelblindversuch bei der Behandlung erhöhter Serumlipide. *Dtsch. med. Wschr.* 100, 2486 - 2488 (1975)
- KORANSKY, W., and R. SCHULTE HERRMANN: Induction of cell proliferation in the liver by drugs. *Proceed. 4th Internat. Congr. Pharmacol.*, July 14 - 16, 1969 (Basel, Switzerland), vol. IV, pp. 277 - 286
- KRITCHEVSKY, D., and S.A. TEPPER: Effect of SaH 42-348, an analog of clofibrate, on lipid metabolism in rats. *Arzneimittel-Forsch.* 23, 858 - 859 (1973)

- LAMB, R.G., S.D. WYRICK, and C. PIANTADOSI: Hypolipidemic activity of in vitro inhibition of hepatic and intestinal SN-glycerol-3-phosphate acyltransferase and phosphatidyl phosphohydrolase. *Atherosclerosis* 27, 146 - 154 (1977)
- LEE, K.J., D.N. KIM, and K.T. LEE: Ultrastructural study of hepatic mitochondrial abnormality in swine treated with clofibrate. *Exper. molec. Pathol.* 20, 387 - 396 (1974)
- LEWIS, N.J., D.R. FELLER, G.K. POOCHIKIAN, and D.T. WITI-
TIK: Differential effects of benzodioxane, chroman, and dihydrobenzofuran analogs of clofibrate on various parameters of hepatic drug metabolism. *J. med. Chem.* 17, 41 - 45 (1974)
- LEWIS, N.J., D.T. WITI-
TIK, and D.R. FELLER: Influence of clofibrate (ethyl-4-chlorophenoxyisobutyrate) on hepatic drug metabolism in male rats. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* 145, 281 - 285 (1974)
- MERCK INDEX, Rahway, N.J., USA, 8th ed., 1968
- MÜLLER-RÜEGSEGG, P.: Die Chemie und Wirkungsweise von Insektiziden. *Dtsch. med. J.* 15, 642 - 649 (1964)
- OLSSON, A.O., S. RÖSSNER, G. WALLDIUS, L.A. CARLSON: Effect of BM 15.075 on lipoprotein concentrations in different types of hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 27, 279 - 287 (1977)
- PAGET, G.E.: Experimental studies of the toxicity of atromid with particular reference to fine structural changes in the livers of rodents. *J. Atheroscler. Res.* 3, 729 - 736 (1963)
- ROETZ, R., und H.-J. MERKER: Elektronenmikroskopisch sichtbare Veränderungen der Rattenaorta nach Fütterung einer lipidreichen Diät und oraler Applikation einer Kombination aus Clofibrat und einem sulfatierten Glykosaminoglykan-Komplex. *Arzneimittel-Forsch.* 28(I), 410 - 416 (1978)

- ROTHFELD, B., A. KARMEN, C.F. HUNTER, and A. VARADY: Does clofibrate mobilize cholesterol from tissues ?
Biochem. Med. 5, 165 - 172 (1971)
- SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT, and E. WILDHIRT: Vergleichende Aktivitäts-Bestimmungen von Enzymen des energie-liefernden Stoffwechsels in der menschlichen und in der Rattenleber.
Klin. Wschr. 36, 172 - 176 (1958)
- SCHÖNBECK, M., G. FORSTER, H. HIRZEL, T. JAKAB und H. ROSEN-MUND: Therapeutische Wirkung von Ciba 13437-Su bei 40 Patienten mit familiärer essentieller Hyperlipidämie.
Dtsch. med. Wschr. 95, 1761 - 1768 (1970)
- SCHWARTZKOPFF, W., und R. ROETZ: Verträglichkeit und Wirkungen von Sinteroid^R. Ergebnisse einer Doppel-blindstudie bei Hyperlipidämien.
Therapiewoche 28, 2437 - 2452
- SCHWARTZKOPFF, W., H. HOFFMANN und E. RUSS: Langzeittherapie von Hyperlipoproteinämien (Typen IIa, IIb, III und IV) mit Clofibrat unter Berücksichtigung von Verträglichkeit und Nebenwirkungen (II).
Herz/Kreisl. 5, 525 - 531 (1973)
- SHOEMAN, D.W., J.G. WHITE, and G.J. MANNERING: Cytochrome P-420: Tubular aggregates from hepatic microsomes.
Science (N.Y.) 165, 1371 - 1372 (1969)
- SODHI, H.S., B.I. KUDCHODKAR, and L. HORLICK: Hypocholesterolemic agents and mobilization of tissue cholesterol in man.
Atherosclerosis 17, 1 - 19 (1973)
- THORP, J.M.: Experimental evaluation of an orally active combination of androsterone with ethyl chlorophenoxyisobutyrate.
Lancet 1962/1, 1323 - 1326
- THORP, J.M., and W.S. WARING: Modification of metabolism and distribution of lipids by ethyl chlorophenoxyisobutyrate.
Nature 194, 948 - 949 (1962)

Nachtrag

(Zitate aus dem Nachtrag sind im Text mit * gekennzeichnet)

BECKETT, R.B., R. WEISS, R.E. STITZEL, and R.J. CENEDELLA:

Studies on the hepatomegaly caused by the hypolipidemic drugs nafenopin and clofibrate.

Toxicol. appl. Pharmacol. 23, 42 - 53 (1972)

BOCHNER, F., B.E. CHAM, and M.J. EADIE: Possible acute

liver toxicity from the hypolipidemic agent

1-methyl-4-piperidyl-bis(p-chlorophenoxy)-acetate.

Toxicol. appl. Pharmacol. 24, 653 - 656 (1973)

HUTH, K., und K. SCHULTIS: Vergleichende Untersuchungen

zur Therapie der Hyperlipoproteinämien.

In: G. BERG (ed.): Hyperlipidämien. Klassifizierung, Untersuchungsmethoden, Therapie.

Thieme, Stuttgart 1971, S. 100 - 109

R. KATTERMANN, R. ARNOLD und W. CREUTZFELD: Zur Frage he-

patotoxischer Nebenwirkungen von 2-Methyl-2-

(p-(1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthyl)-phenoxy)-propionsäure (Ciba 13,437 -Su).

Arzneimittel-Forsch. 22, 616 - 619 (1972)

KRISHNAKANTHA, T.P., and C.K. RAMAKRISHNA KURUP:

Increase in hepatic catalase and glycerol phosphate dehydrogenase activities on administration of clofibrate and clofenapate in the rat.

Biochem. J. 130, 167 - 175 (1972)

SCHWARTZKOPFF, W., und M. ZSCHIEDRICH: Zur Kombinations- oder

Monotherapie der Hyperlipoproteinämien Typ IIb, IV, V mit Clofibrat und m-Inositolnicotinat oder Clofibrinsäure.

Med. Klin. 73, 231 - 239 (1978)

Bildanhang (Abb. 4 - 23)

Abbildung 4

Rattenaorta, Gruppe A, HE/Azan, ca. 100 x

Abbildung 5

Rattenaorta, Gruppe B, HE, ca. 100 x - keine pathologischen Veränderungen im histologischen Bild.

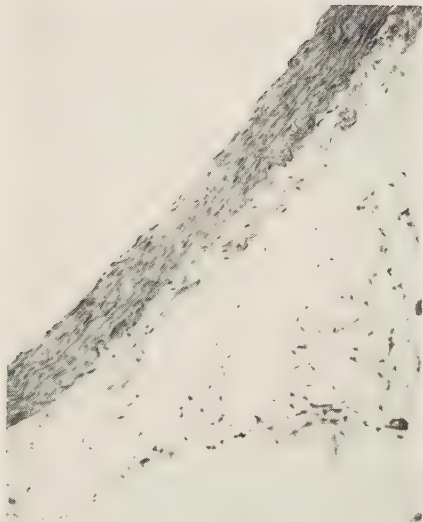
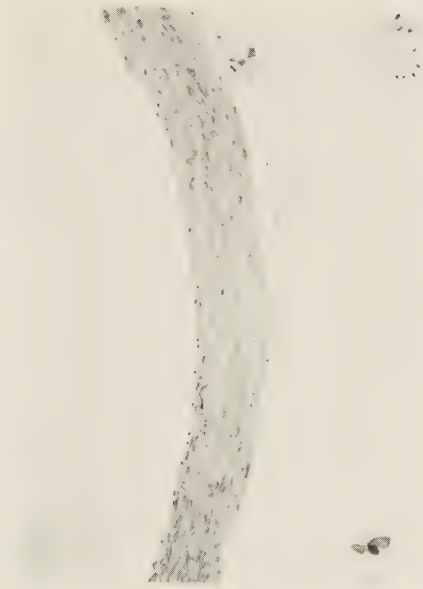


Abbildung 6

Rattenaorta, Gruppe B (atherogene Diät für 12 Wochen);
Kress-Azan, ca. 250 x - fragmentiertes Elastin (FE) und
Endothelinfiltrate (EI), daneben vergrößerte Abstände
zwischen den elastischen Fasern.

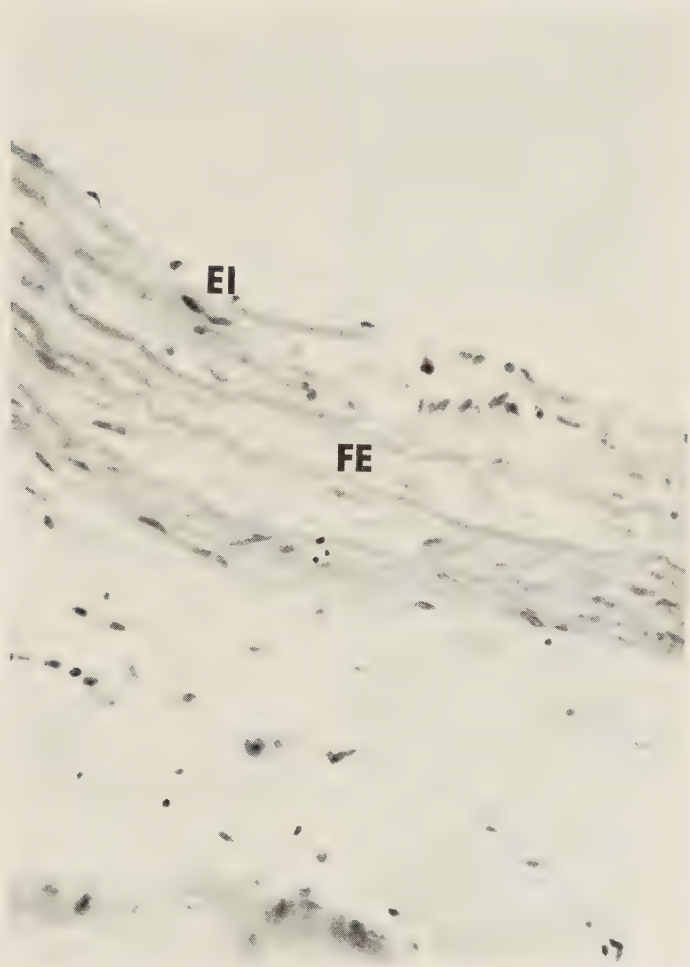


Abbildung 7

Rattenleber, Gruppe A (Kontrollen), Azan, ca. 100 x.

Abbildung 8

Rattenleber, Gruppe B nach sechswöchiger atherogener
Diät starke fettige Degeneration des Leberparenchyms;
Azan, ca. 100 x.

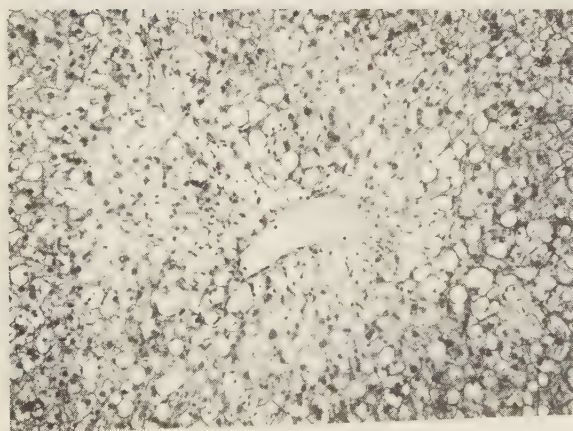
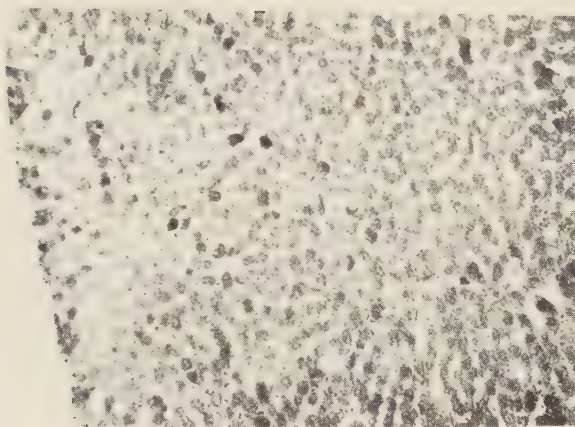


Abbildung 9

wie Abb. 8, ca. 250 x.

Abbildung 10

Rattenleber, Gruppe C, nach sechswöchiger Verfütterung einer atherogenen Diät mit Zumischung von Clofibrat + SMC; Azan, ca. 100 x - fettige Degeneration nur in geringem Umfang und in einzelnen Parenchymbezirken.

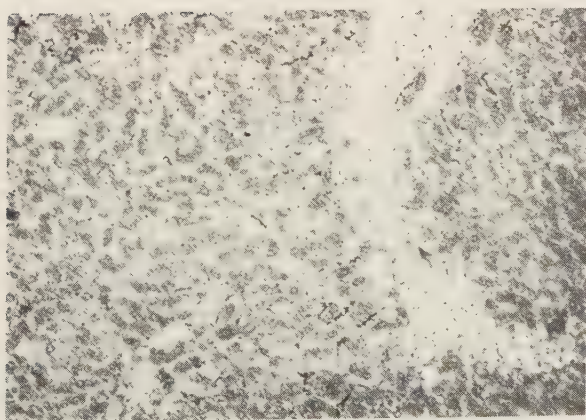
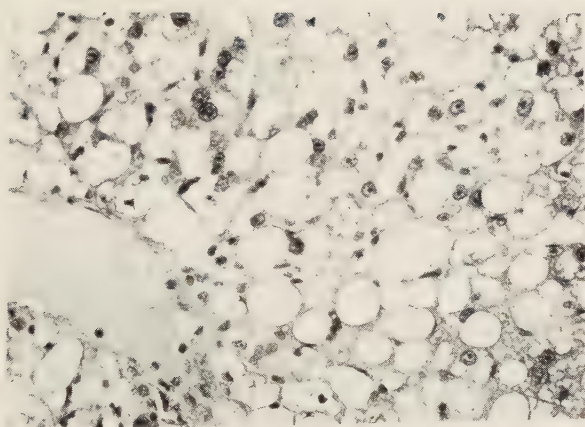


Abbildung 11

wie Abb. 10 - nur vereinzelte Lipideinlagerungen

Abbildung 12

Rattenleber, Gruppe D, nach 6 Wochen Vorschädigung
mit atherogener Diät und weiteren 6 Wochen atherogene
Diät + Clofibrat + SMC - weitgehende Restitution des
Leberparenchyms; ca, 100x, HE.

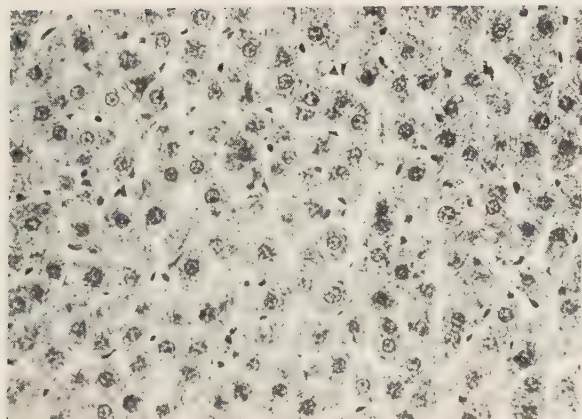
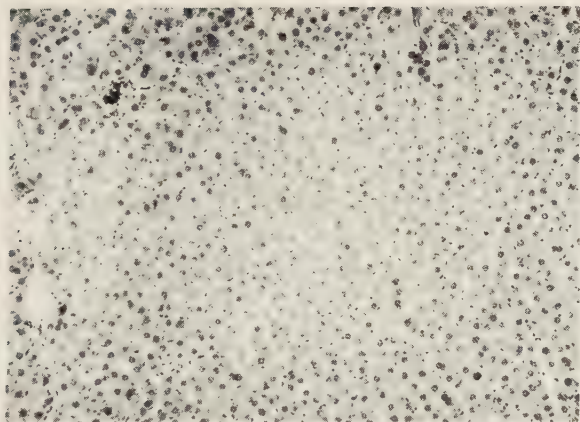


Abbildung 13

Rattenleber, Gruppe C, nach sechswöchiger Verfütterung von atherogener Diät + Clofibrat + SMC und weiterer sechswöchiger Erholung bei Normaldiät, HE, ca. 100 x - fast vollständig unauffälliges Leberparenchym, bei (Z) kleinere Zellinfiltration (bei Nagetieren häufig).

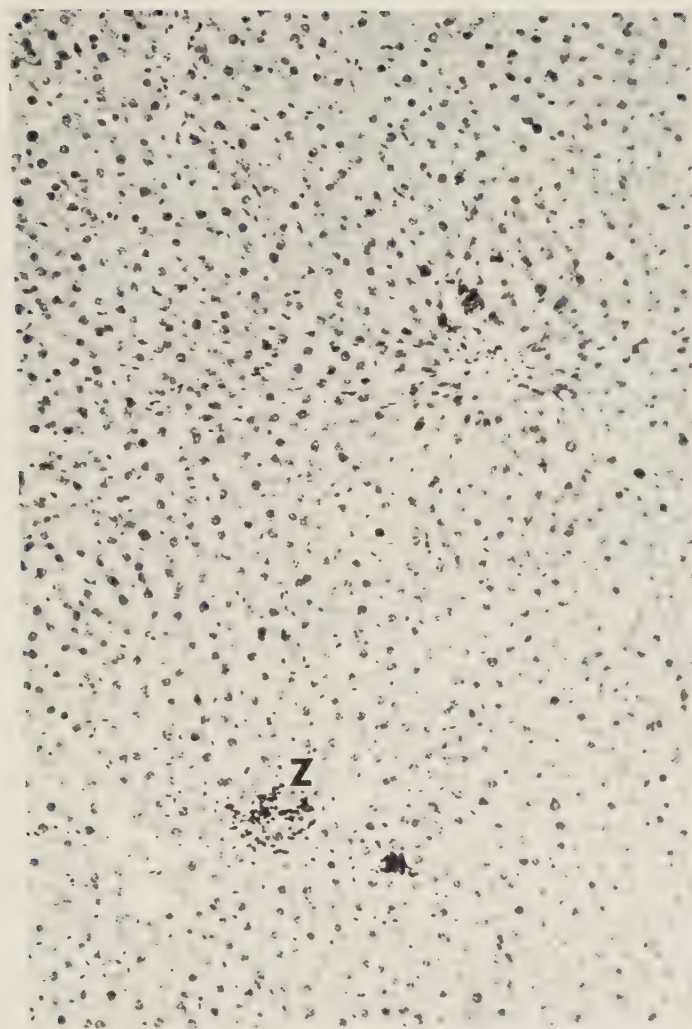


Abbildung 14

Rattenleber, Gruppe A (Kontrolltiere), 7500 x - deutliche Darstellung der Zellmembran (ZM), der Mitochondrien (MI) und des rauhen endoplasmatischen Retikulums (ER).

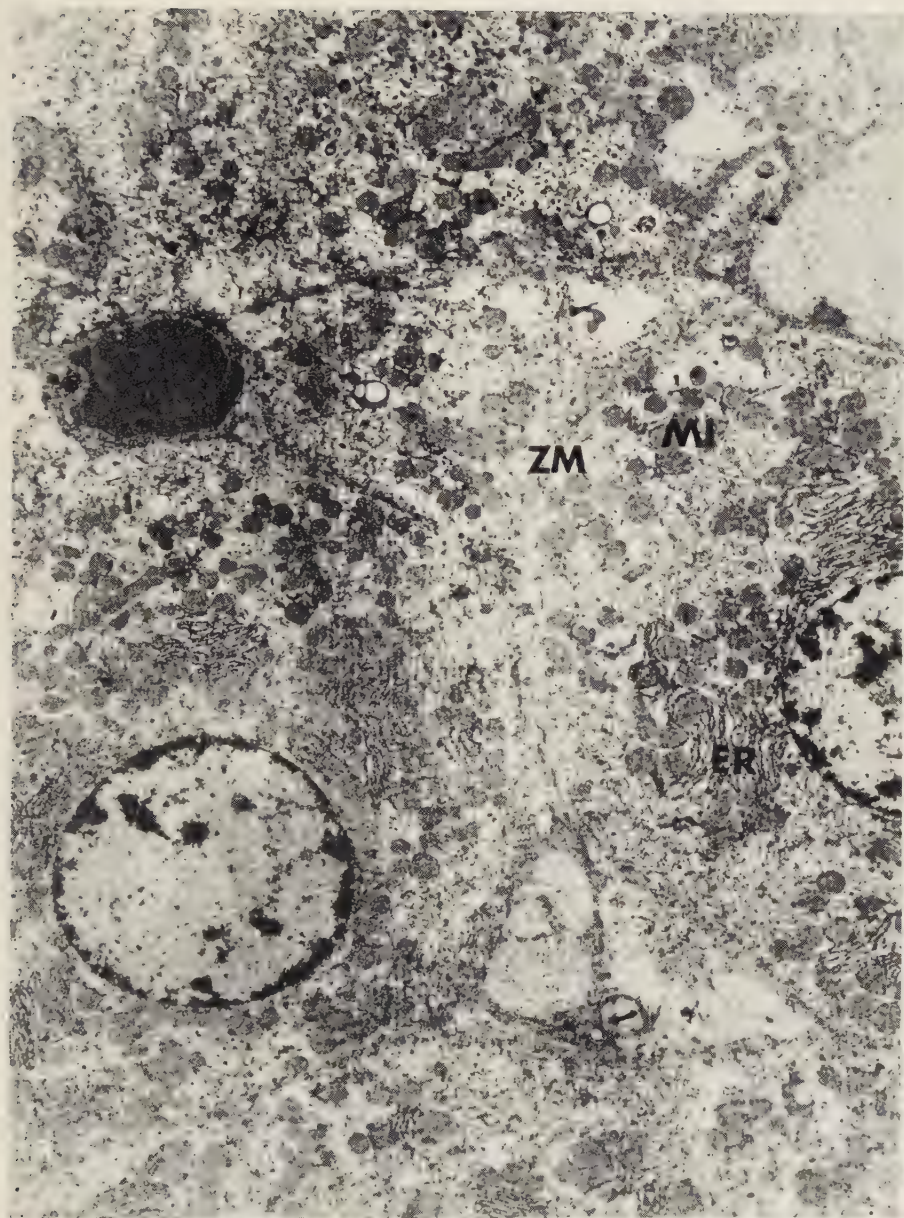


Abbildung 15

Rattenleber, Gruppe A (Kontrolltiere), 48000 x - normale Mitochondrien (MI).

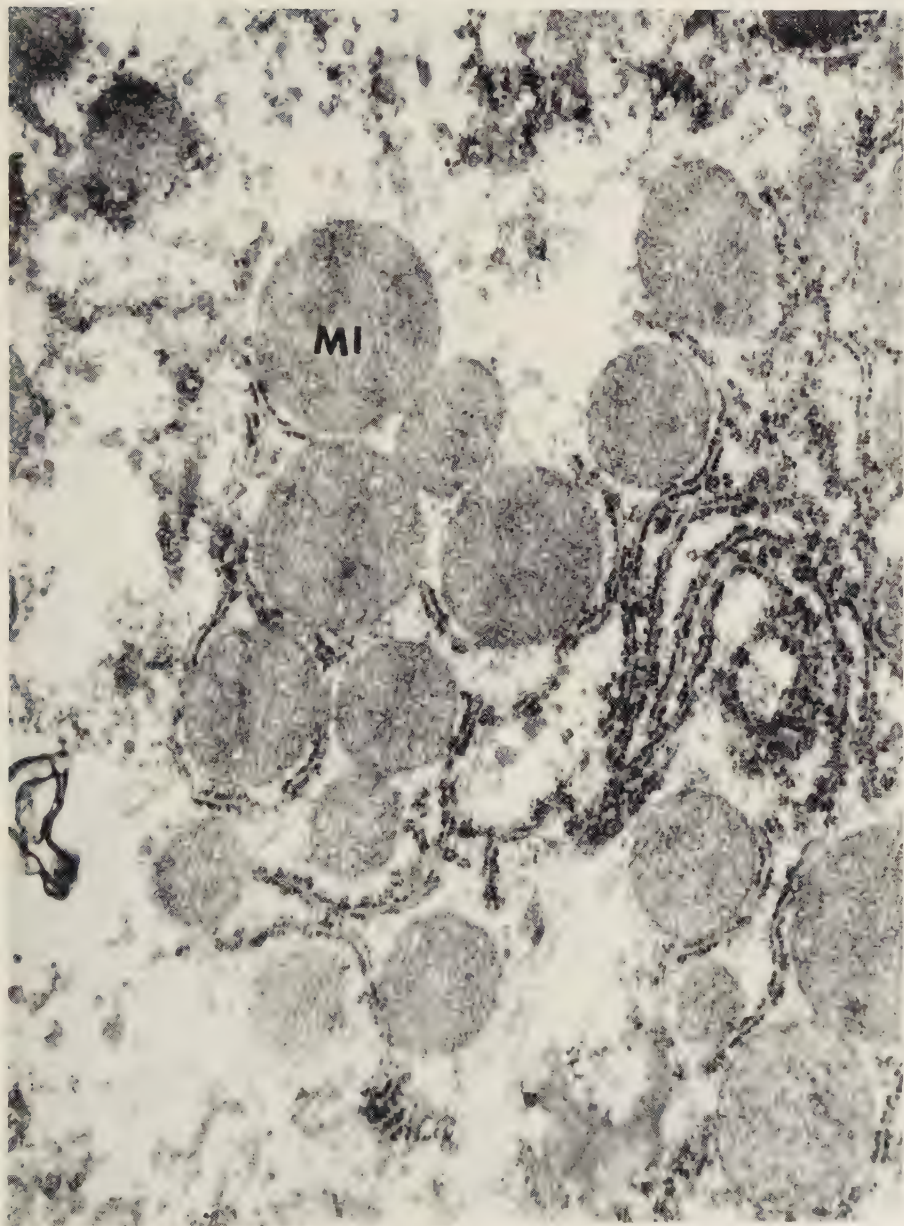


Abbildung 16

Rattenleber, Gruppe A (Kontrolltiere), 37500 x - scharf strukturierte Zellmembran (ZM).

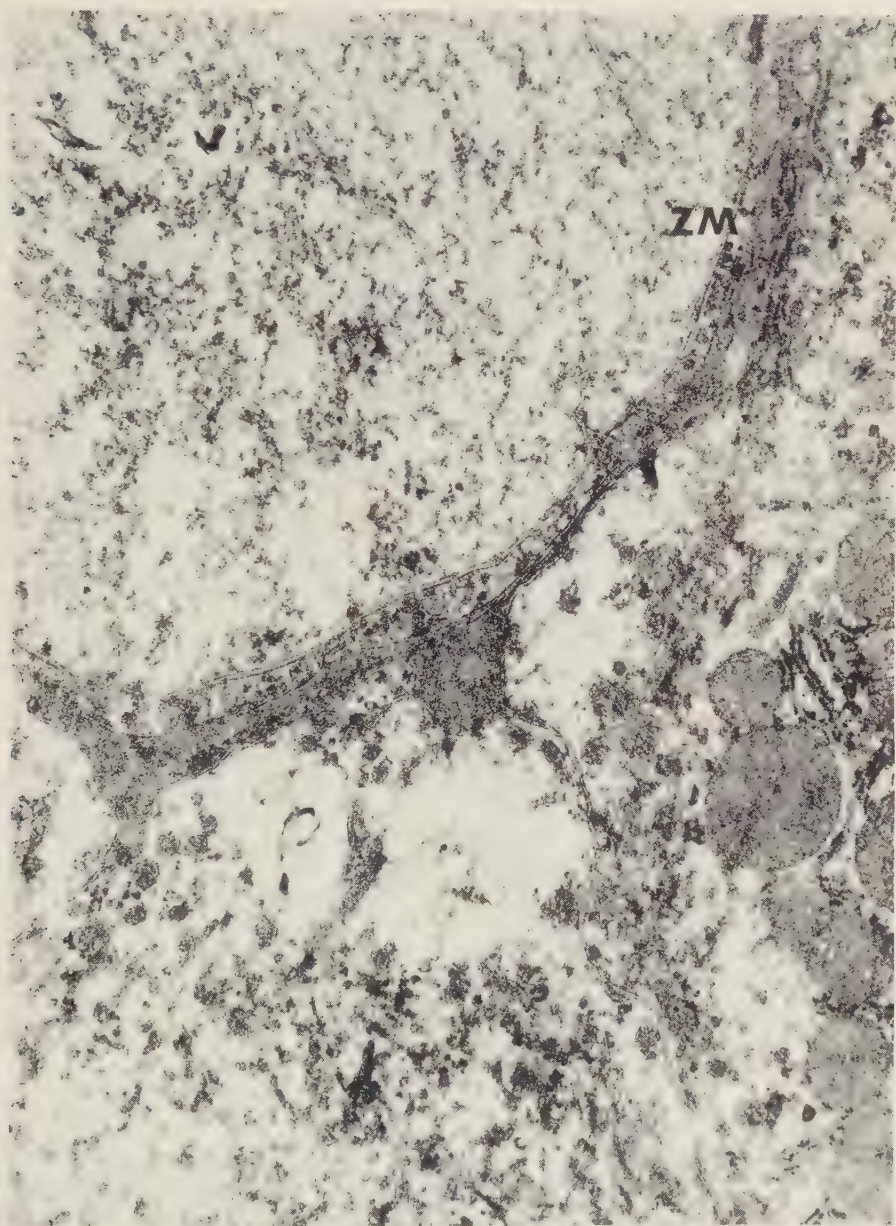


Abbildung 17

Rattenleber, Gruppe B nach sechswöchiger atherogener Diät, 48000 x - im Zytoplasma Lipideinlagerungen (L), weiter unscharfe Membranen des Zellkerns (ZK).



Abbildung 18

Rattenleber, Gruppe B nach 12 Wochen atherogener Diät,
6000 x - Zellen mit Fettvakuolen (V) durchsetzt.

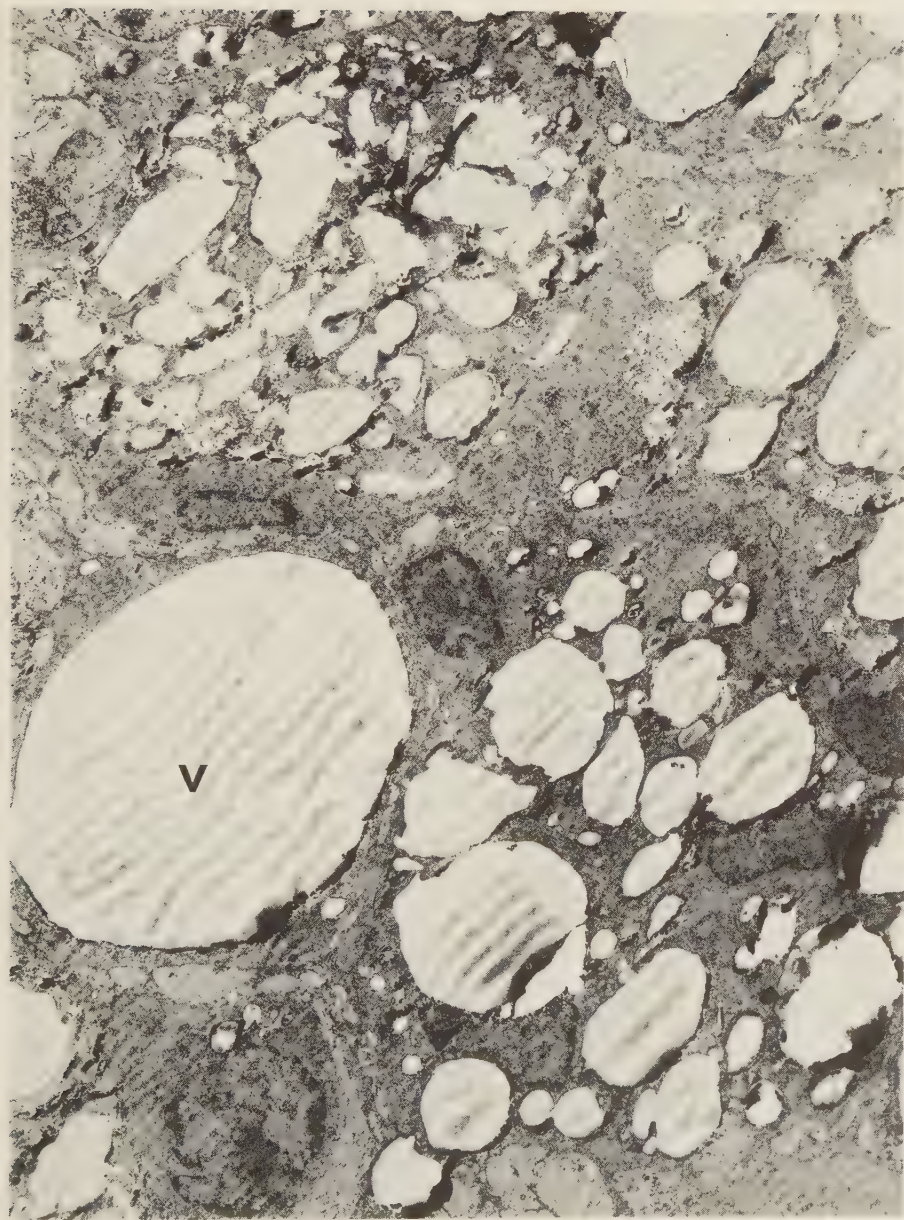


Abbildung 19

wie Abb. 18, 6000 x - Umgebung eines Leberblutgefäßes (B) mit pathologischen Veränderungen der Umgebung, (V) = Fettvakuolen.

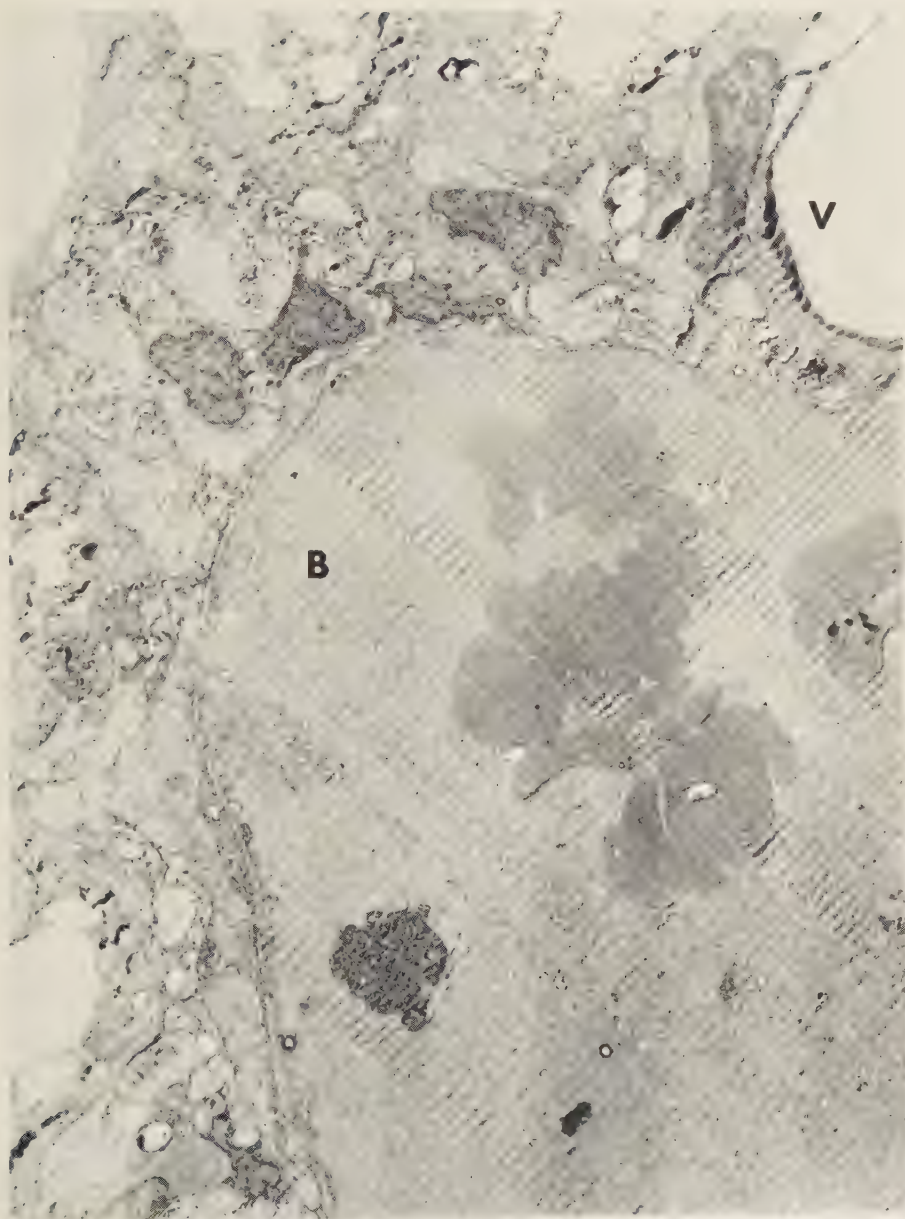


Abbildung 20

Rattenleber, Gruppe C nach 6 Wochen atherogener Diät +
Clofibrat + SMC, 6000 x - neben Fetteinlagerungen im
Zytoplasma (V) vollständig normale Parenchymzellen (P).

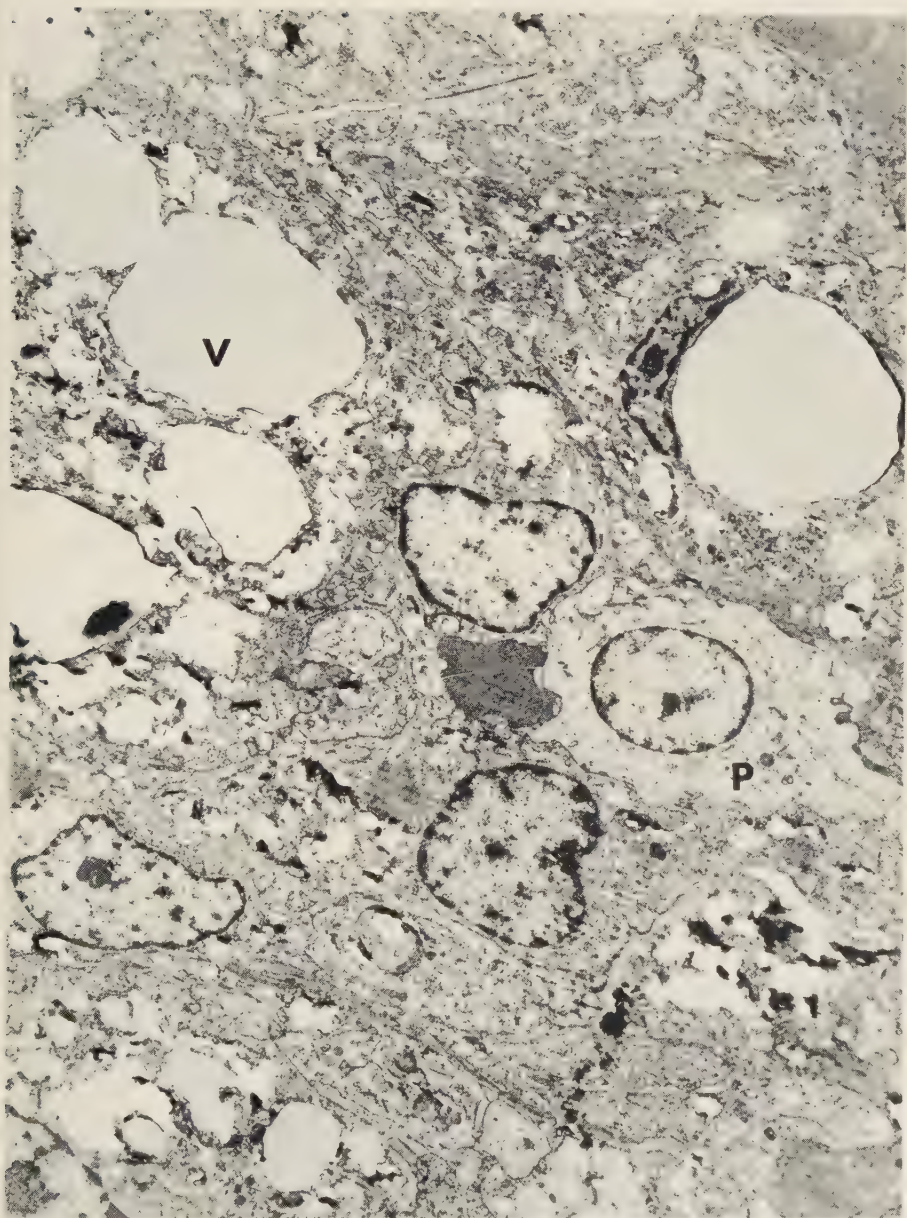


Abbildung 21

wie Abb. 20, 37500 x - einwandfrei scharfe Struktur der Membran des Zellkerns in unmittelbarer Nachbarschaft einer Lipidvakuole (V).

V

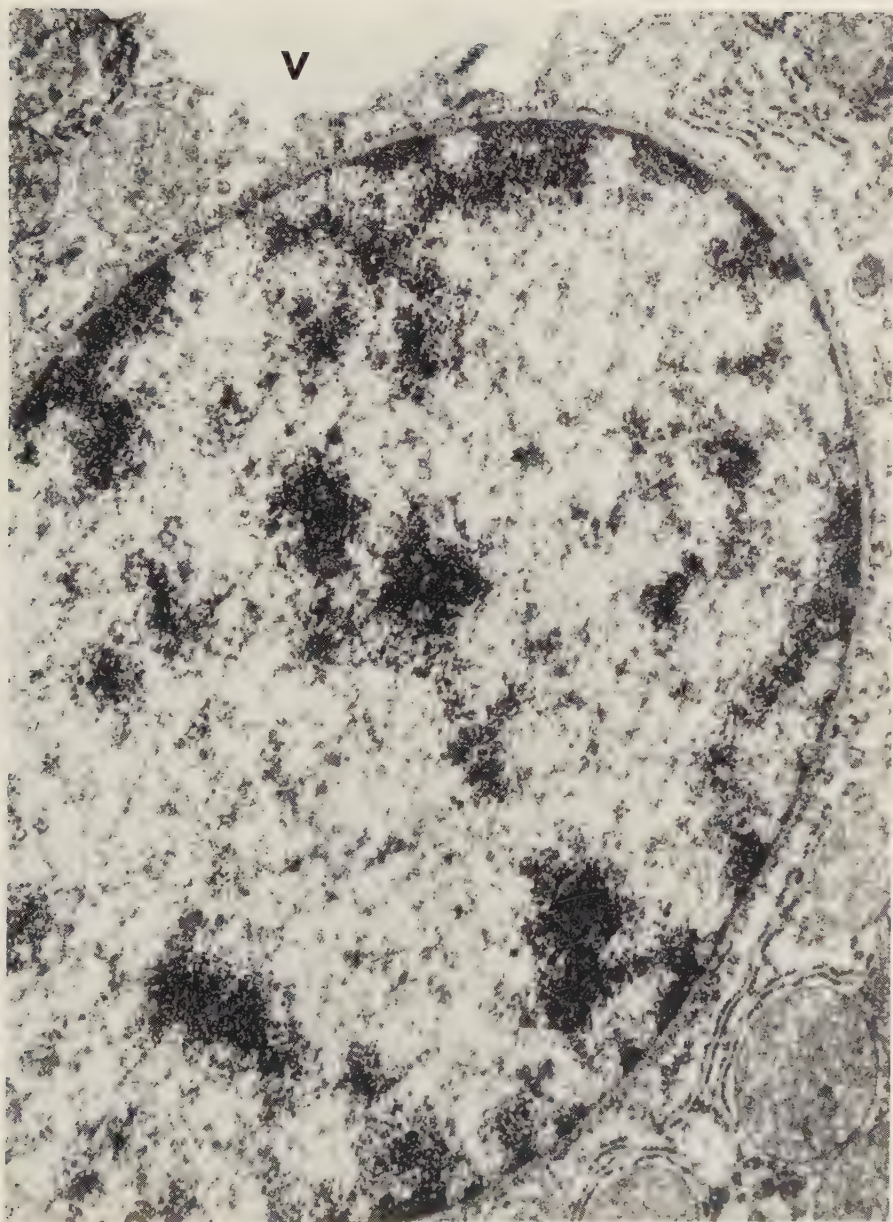


Abbildung 22

Rattenleber, Gruppe D, nach 6 Wochen Vorschädigung mit atherogener Diät und weiteren 6 Wochen atherogene Diät + Clofibrat + SMC, 6000 x - weitgehende Restitution des Leberparenchyms, nur geringgradige klein-vakuoläre Lipideinlagerungen (X).

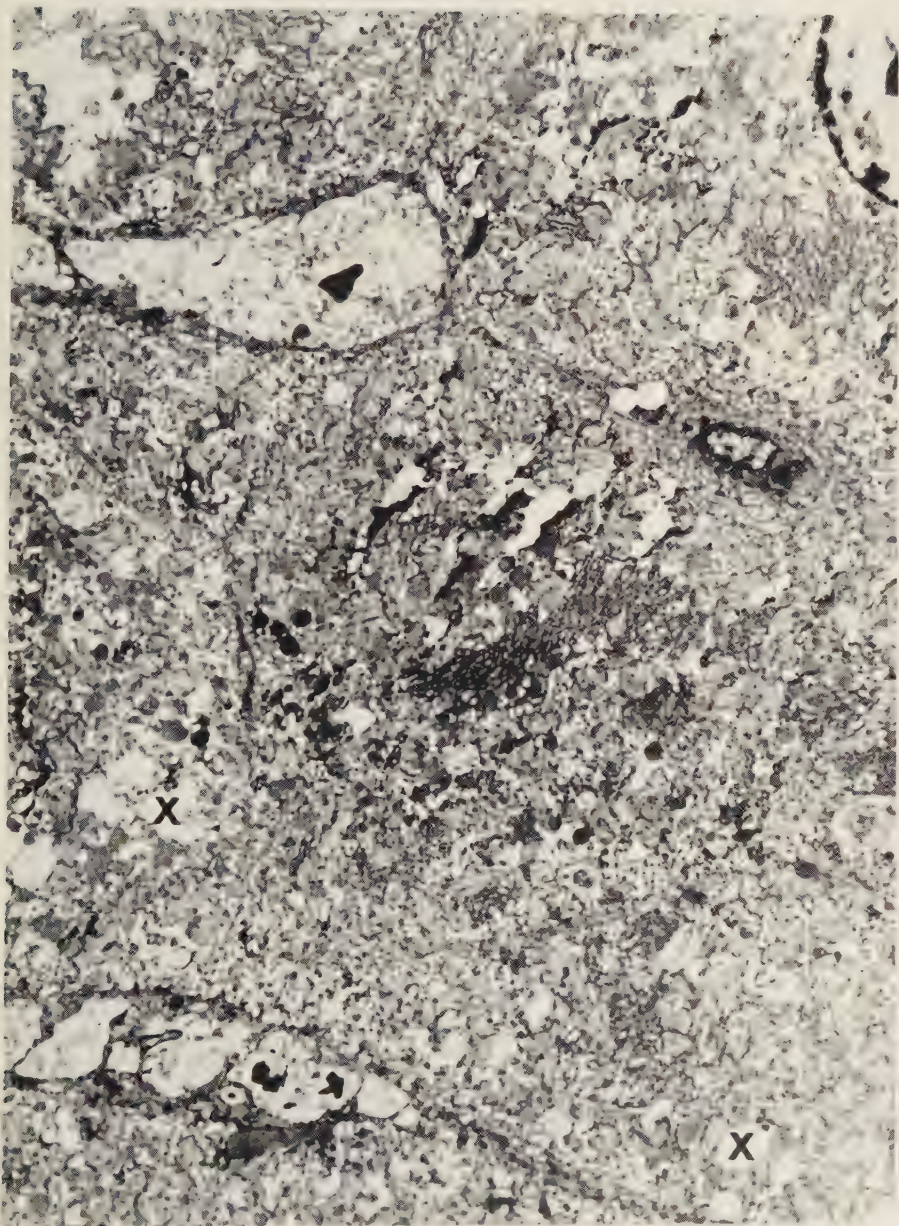
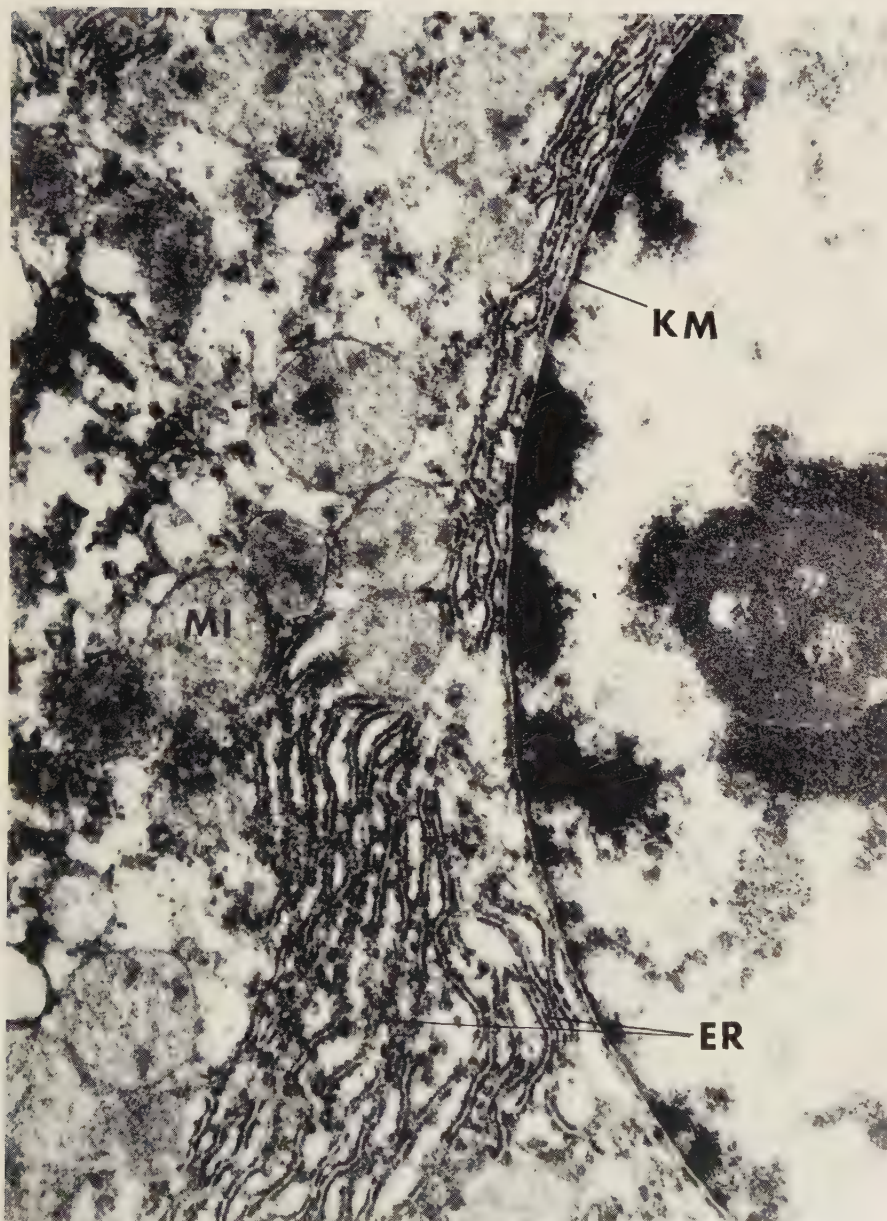


Abbildung 23

wie Abb. 22, 37500 x - normale Struktur von: Zellkernmembran (KM), Mitochondrien (MI) und rauhem endoplasmatischen Retikulum (ER).



Herrn Prof. Dr. med. MILAN POSPISIL danke ich für die Überlassung des Themas und sein stetes förderndes Interesse.

Herr Assist.-Prof. Dr. rer. nat. RICHARD ROETZ war mir bei der Abfassung des Manuskriptes, speziell bei der Diskussion über Wirkungen und Nebenwirkungen der verschiedenen blutlipidreduzierenden Substanzen behilflich, wofür ich ihm auch an dieser Stelle danke.

Mein Dank gilt weiter den Mitgliedern des Anatomischen Instituts, insbesondere Frau U. KRÜGER, Frau C. EHRHORN, Frä. H. STÜRJE und Herrn R. STENZEL für ihre Beteiligung an den histologischen und elektronenmikroskopischen Präparaten.

Der Firma Dr. Rentschler, Arzneimittel GmbH & Co., 7959 Laupheim, danke ich für die Übernahme der Kosten für die speziell angefertigten Rattendiäten.

Lebenslauf

Geboren: 11. Juli 1941, München
Eltern: Dr. med. Emil Höllischer/ Erna Höllischer,
geb. Albert

1947 - 1951 Volksschule, Ettlingen/Baden
1951 - 1960 Gymnasium, Ettlingen/Baden; Abitur

Medizinstudium:

SS 1961 - WS 1961/62 Universität Heidelberg; Vorphysikum
SS 1962 - 1964 Freie Universität Berlin; Physikum
1964 - 1967 Ludwig-Maximilian-Universität München;
Staatsexamen

Medizinalassistentenzeit:

Juli/Dez. 1968 Kinderabt., Städt. Krankenh. München-
Schwabing
Jan./Juni 1969 Inn. Abt., Krankenanstalt Dr. H. May,
Kreuth/Tegernsee
Juli/Dez. 1969 Chirurg. Privatklinik Dr. Schreiber,
München
Jan./Juli 1970 Gynäkol.-geburtshilfl. Abt., Städt.
Krankenhaus München-Schwabing; Approbation

Facharztausbildung:

Juli/Sept. 1970 Assistenzärztin, Gynäkol.-geburtshilfl.
Abt., Städt. Krankenh. München-Schwabing
Okt. 1970/März 1971 Beginn der Facharztausbildung für
Innere Med. an der 4. Med. Abt., Städt.
Krankenhaus München-Schwabing
Apr. 1971/Okt. 1976 1. Inn. Abt., Städt. Krankenhaus
Berlin-Spandau (Lynarstraße)
April 1977 Facharztanerkennung für Innere Medizin
(Ärztekammer Berlin)

Die experimentellen Arbeiten für meine Dissertation habe
ich 1975/76 am Anatomischen Institut der FU Berlin unter
Anleitung von Prof. Dr. med. M. Pospisil durchgeführt.
Seit Sept. 1976 bin ich mit dem Gynäkologen Dr. med. Jiri
Kratochvil verheiratet und lebe in Tutzing/Oberbayern, wo
ich am Inst. für Sozialmed. Prävention und Rehabilitation
arbeite.

Ulla Kratochvil

